المملكة العربية السعودية
وزارة التعليم العالي
جامعة أم القرى
معهد البحوث العلمية
مركز بحوث العلوم التطبيقية

سلسلة بحوث العلوم التطبيقية

٤٠٠٠١٢٥

دراسات على بعض الأنشطة الفسيولوجية للفطريات المحبة للقلوية المعزولة من منطقة مكة

Studies on Some Physiological Activities of Alkalophilic Fungi Isolated from Makkah District

عبدالعزيز مصطفى عقاب عبدالفتاح عبدالعزيز خضير

عبدالرحمن سعد السعدي

قسم الأحياء – كلية العلوم التطبيقية

١٤٢٤ هـ - ٢٠٠٣ م

ح جامعة أم القرى، ١٤٢٣هـ.

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر.

عقاب، عبدالعزيز مصطفى

دراسات على بعض الأنشطة الفيولوجية للفطريات المحبة للقلوية المعزولة من منطقة مكة / عبدالعزيز مصطفى العقاب؛ عبدالفتاح عبدالعزيز خضير؛ عبدالرحمن سعد السعدي – مكة المكرمة، ١٤٢٣هـ

٨٠ ص ؛ ١٧×٢٤ سم

١ – الفطريات مكة المكرمة (السعودية) أ – خضير ، عبدالفتاح عبدالعزيز (مؤلف مشارك) ب – السعدي ، عبدالرحمن سعد (مؤلف مشارك) ج – العنوان

ديوي ٥٨٩,٢ ١٤٢٣ / ٥٠٧٤

رقم الإيداع : ٥.٧٤ / ١٤٢٣

ردمك : ٧ – ٦٢٢ – ٠٣ – ٩٩٦٠

الطبعة الأولى

بسم الله الرحمن الرحيم

الملخص

استهدف مشروع البحث عزل فطريات محبة للقلوية أو مقاومة لها من بيئات منطقة مكة المكرمة. ومن ثم إماطة اللثام عن أهميتها البيئية وذلك بتحديد دورها في التربية من خلال دراسة أهم صفاتها الفسيولوجية.

تتضـــمن منطقة مكة المكرمة العديد من البيئات النوعية، أكثر هذه البيئات وضوحاً هي:

١- شاطئ البحر الأحمر (ويمثله شاطئ منطقة الشعيبة).

٢- الأراضي المنخفضة حول مكة (تمثلها ضاحية الكعكية).

٣- السهل الساحلي (يمثله طريق مكة – الطائف).

٤- المـــرتفعات (تمثلها منطقة الطائف والتي يصل ارتفاعها إلى ١٦٠٠كم فوق سطح البحر).

لاســـتيفاء متطلـــبات مشـــروع البحث، تم جمع عينات تربة ممثلة للبيئات المذكـــورة، ومن ثم دراسة توزيع الفطريات المحبة للقلوية والتي تستوطنها، ثم عزل أكثرها انتشاراً.

تم جمـــع عيـــنات تـــربة تحت سطحية مختلطة ممثلة للبيئات السابقة الذكر، وأشارت نتائج تحليلها إلى أن جميع العينات قلوية (تتراوح القيم بين ٨,١ ــ ٩,٢) بيـــنما اختلفت العينات من حيث محتواها من الرطوبة، والأملاح القابلة للذوبان في المـــاء والمـــواد العضـــوية، حيث ازداد محتوى التربة من المواد العضوية في العينات المغطاة بكساء خضري عن تلك العارية من النباتات. تم عد الفطريات التي تستوطن عيـــنات الـــتربة والقـــادرة على النمو في وسط غذائي شديد القلوية (رقم الأس الهيدورجـــيني ١٠,٥) واتضـــح أن مثل هذه الفطريات واسعة الانتشار في عينات التربة المختبرة وتزداد أعدادها بزيادة محتوى التربة من المواد العضوية، بينما محتوى

التربة من الأملاح القابلة للذوبان في الماء ذات تأثير مثبط على الفطريات ويقلل من هذا التأثير الضار محتوى التربة من المواد العضوية.

تتضمن الفطريات النامية على أطباق العد عشرين جنساً فطرياً بالإضافة إلى غـــزل فطـــري عقيم (لا ينتج وحدات تكاثرية، شفاف وملون)، يمكن الإشارة إلى هـــذه الفطـــريات على أنها محبة للقلوية، حيث تم عزلها على بيئات غذائية شديدة القلويـــة (رقـــم الأس الهيدروجـــيني ١٠,٥)، تضم هذه العزلات فطريات خميرة وفطـــريات خيطـــيه، تختلف أعداد الأجناس باختلاف المواقع، عدد كبير في الموقع **VIII** (بيـــئة المرتفعات المغطاة بنبات العرعر) (١٣ جنساً) يتبعه الموقع **III** (أراضي منخفضة تجرى فيها عمليات استصلاح) والموقع **V** (موقع مزروع بنبات الفول في بيئة السهل الساحلي) (سبعة أجناس في كل منهما) وجنسين في كل نوع من الموقع **IV** (أراضي السهل الساحلي المغطاة بنبات العشار) و **VII** (أراضي مزرعة في بيئة المـــرتفعات). بيـــنما لم يسجل غير جنس واحد في الموقع **I** (تربة عارية من أراضي النباتات في بيئة الشاطئ).

أظهـــرت النـــتائج غـــياب حب القلوية إجباراً (فطريات لا تنمو عند رقم الـــتعادل ولكنها تنمو مثالياً عند الرقم الهيدروجيني ١٠ فأكثر) في العزلات تحت الدراســـة، أمـــا حـــب القلوية إختياراً (نمو أفضل عند الأرقام ٩، ١٠ عنه تحت الظـــروف الحامضـــية أو المـــتعادلة) فقـــد تمثل في الأنواع **Cylindrocarpon hetreonema** و **strium Acremonium** و **moniliforme Fusrium** أمـــا بقية العـــزلات فقـــد أظهرت قدرة على تحمل القلوية (تنمو جيداً عند الرقم ٩ – ٨ وتنمو أيضا عند درجة التعادل).

لـــتحديد الأهمـــية البيئـــية لهـــذه العـــزلات، فقد تم دراسة بعض صفاتها الفسيولوجية وهي:

أولاً: قدرة بعض العزلات الفطرية المحبة للقلوية إختياراً (ثلاث عزلات) والمتحملة للقوية (عزلتان) على إفراز الإنزيمات المحللة للنشا، السليوز و/ أو المواد البكتينية.

استهدف البحث تقييم قدرة ثلاثة فطريات محبة للقلوية إختياراً (أكريمونيم ستريكتم، سلندروكاريون هيترونيما و فيوزاريم مونيلفورم) وفطرتين محتملتين للقلوية (اسبرجيلاس فلافيس ورايزوكتونيا سولاني) على تشييد وإفراز بعض إنزيمات الحلمأة (أميليز، بولي جالاكتيورونيز وسليوليز). أفرزت جميع العزلات الفطرية المختبرة إنزيمات الأميليز، بولي جالاكتيورونيز وسليوليز). أفرزت جميع العزلات الفطرية المختبرة إنزيمات الأميليز، بولي جالاكتيورونيز وسليوليز عند تنميتها على بيئة تشابك المزودة بالنشأ، بكتين الموالح أو كربوكسي ميثيل سليلوز، على التوالي، كمصدر وحيد للكربون.

تباينت النتائج المتحصل عليها ولكن لوحظ أنه لا توجد علاقة بين معدل نمو أي من الفطريات المختبرة وقدرها على تشييد و إفراز أي من الإنزيمات التي تم تقدير نشاطها، الأمر الذي يشير إلى ضرورة دراسة تأثير العوامل المختلفة على معدل تشييد هذه العزلات موضع الدراسة.

ثانياً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على إنتاج الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز بواسطة بعض الفطريات المحبة للقلوية إختياراً.

استهدف البحث دراسة تأثير كل من أرقام الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي (٧ ، ٩ ، ١٠) وفترة التحضين (٥ ، ١٠ ، ١٥ يوم) على معدل نمو الأسماء العلمية باللغة الاتينية ونشاط الفطريات أكريمونيم ستريكتم وسلندروكاربون هترونيما.

تم تنمية الفطريات على تشابك المحتوية على بكتين المواخ أو كربوكسي

ميثيل سليلوز كمصدر وحيد للكربون وذلك لاختبار قدرتها على تشييد الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية (PG,PME) والسليلوز (إنزيم السليوليز) على التوالي.

صاحب نمو العزلتين تغير واضح في أرقام الأس الهيدروجيني لأوساط النمو في نهاية كل من فترات التحضين، بحيث أصبحت قريبة من pH ٩ ومعدل نمو الفطريات وأيضاً تشييدها للإنزيمات كان أفضل في الأوساط الغذائية ذات رقم الأس الهيدروجيني المبدئي (٩). شيدت الفطريات المختبرة الأنزيمات المحللة للمواد البكتينية بمعدل أكبر من إنتاجها للسليوليز، كما أن فترة التحضين لمدة عشرة أيام كانت الأنسب من نمو الفطريات وإنتاجها للإنزيمات بينما تنخفض القيم بزيادة فترة التحضين إلى ١٥ يوم.

ثالثاً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على نمو وإنتاج عديدات التسكر بواسطة الفطرة المحبة للقلوية إختياراً **Acremonium strictum**.

أظهرت هذه الدراسة تأثير اختلاف أرقام الأس الهيدروجينية (٧ ، ٩) على النمو (الوزن الجاف)، إنتاج عديدات التسكير بعد استهلاك الجلوكوز المضاف للبيئة وتغير الأس الهيدروجيني للبيئة الغذائية بعد نهاية فترة التحضين لفطرة **Acremonium strictum**.

فقد أظهرت النتائج أن معدل استهلاك الجلوكوز إنتاج عديدات التسكر تزداد مع زيادة فترة التحضين. هذا وقع بلغ النمو (الوزن الجاف) ذروته في كلا التجربتين (الأولى ذات رقم الأس الهيدروجيني ٧ والثانية ذات رقم الأس الهيدروجيني٩). بعد أربعة أيام من بداية فترة التحضين. ثم تبعه انخفاض الوزن الجاف من اليوم الخامس من بداية فترة التحضين وحتى نهايتها. وقد صاحب ذلك النمو تغير في رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي، تمثل في الانخفاض في بداية

فترة التحضين في كلا التجربتين.

وقد بلغ معدل الانخفاض في الوزن الجاف أعلى قيمة له عند رقم الأس الهيدروجيني (٧) مقارنة بنظيره رقم الأس الهيدروجيني (٩). وعلى العكس فإن كمية الجلوكوز وكمية النمو (الوزن الجاف) إنتاج عديدات التسكر وإفرازها خارج الخلايا قد بلغت أعلى قيمها عند الأس الهيدروجيني (٩). مقارنة بمثيلتها عند رقم الأس الهيدروجيني (٧).

Abstract

The aim of this project to study the occurrence and density of alkalophilic fungi in soil of Makkah districts and their ecological role in soils and some physiological aspects. Four locations were chosen from Makkah district as follows:-

1. Red Sea shore at sheaba.
2. Lowland of Alka'keyah.
3. Coastal plain (MAKKAH –Altaif road).
4. Mountain (Altaif city about 1600 m above sea level).

Soil samples were collected from each site, and the results obtained, revealed that alkalinity is one of the distinctive features of soils, where the pH values ranged between (8.1 – 9.2).

In soil samples, the values of moisture contents, total soluble salts and organic contents were differ.

Twenty-one genera in addition to mycelia sterilia were identified as alkalophilic fungi on isolation plates. The number of genera varied with the site variation. Being clearly higher in site VIII (13 genera) followed by site III and site V (7 genera) followed by VII, VI , IV (2 genera) while site I was inhibited by only one genus. No obligate alkalophily was found, but facultative alkalophily was shown.

To determine the environmental important of isolates, some physiological aspects were studies as follows: -

1. Production of extracellular hydrolytic enzymes by some alkalophilic filamentous fungi

The ability of three facultative alkalophilic fungi (Acremonium strictum, Cylindrocarpon heteronema , Fusarium moniliforme) and two alkali-tolerant ones (Aspergillus flavipes , Rhizoctonia solani). To produce extracellular hydrolytic enzymes (amylase (s) , polygalacturonase and cellulase when grown on Czapek media containing starch , citrus pectin or carboxymethyle cellulose as sole source of carbon , respectively) were tested Considerable variations were observed and hydrolytic enzymes production were not correlated with growth rates of tested fungi

2. Effect of pH and incubation period on production of pectolytic and cellulolytic enzymes by some alkalophilic fungi

This study shows the effect of pH (7, 9, 10) and the incubation period (5, 10, 15 days) on growth and hydrolytic enzymes activity of Acremonium strictum, Cylindrocarpon heteronema.

The two isolates were grown on Czapec media containing citrus pectin or carboxy methyl cellulose as sole carbon source to produce pectolytic enzymes (PG , PME) and celullytic enzymes (celullase).

The growth rate of the two isolates was concomitant change in the pH values of the growth media till the termination of incubation period where pH values shifted toward (9).

The maximum amount of growth rate and production of hydrolytic enzymes were obtained at pH 9

The production of pectolytic enzymes by the two isolates was higher than celullolytic enzymes.

The amount of growth and enzymes production were reached the maximum values after incubation period of ten days , and afterward decreased by 15 days.

3. Effect of pH and incubation period on growth and exopolysaccharide production by the facultative alkalophilic Acremonium strictum.

This study shows the effect of pH 7 and 9 on growth, exopolysaccharide production, glucose consumption as well as the changes in the pH of the growth media during an incubation period of 20 days of the alkalophilic fungus, Acremonium strictum isolated from the soil of Makkah District, Saudi Arabia.

It is clear that the rate of glucose consumption and polysaccharide production increased as the incubation period continued. While the amount of growth, (as dry weight) was reached the maximum value after an incubation period of 4 days. And afterward decreased gradually. The results of two experiments conducted at pH 7 and pH 9 indicate the increase in growth rate exhibited a concomitant decrease in the pH of the growth media up to the forth daw of the incubation period.

The lower dry weight value was recorded at pH 7, whereas the maximum glucose consumption, amount of growth and polysaccharide production were obtained at pH 9 compared to those at pH 7, after 20 days of incubation period.

المقدمـــــة

تتمـــيز تـــربة البيئات القارية بأنها قلوية حيث لا تتوفر أمطار كافية لغسيل المركبات القاعدية الناتجة عن عمليات التجوية (**Daubenmire,1959**).

وحيـــث أن تربة بيئات المملكة العربية السعودية تتسم بنفس الصفات. لذا فـــأن عينات التربة التي جمعت من المنطقة الغربية (منطقة مكة المكرمة) تراوحت فيها الأرقام الهيدروجينية بين (٨,١-٩,٢) (**Khodair,et al.,1991,Salama,et al.,1993**) تمثل عينات التربة هذه بيئات ملائمة لنمو ونشاط الكائنات الدقيقة المحبة أو المحتملة للقلوية.

وتتمـــيز هـــذه البيـــئات باختلاف مناخها، حيث يتسم الشاطئ والسهل الساحلي بطول فترة الجفاف السنوية، قلة الأمطار والطقس الحار، بينما المرتفعات الواقعة إلى الشرق من الشاطئ والسهل الساحلي تتميز بفترات جفاف سنوية أقل، كمية أمطار أكثر وطقس بارد إلى حد ما. (بدر الدين ١٩٩٢).

هـــذه البيئات الطبيعية البعض منها متمثل بتربة عارية والبعض الآخر متمثل بعشـــائر نباتـــية بـــرية (مثل عشيرة الرطريط **zugophyllum album**، عشيرة الســـويدا **Suaeda monoica**، عشيرة العشار **Calotropis procera** ، وعشيرة العرعر **Juniperus procera**) أو نباتات مزروعة (فول، مشمش، ورد).

وقـــد تركزت معظم الدراسات على الباكتريا المحبة للقلوية وخاصة باكتريا باسيللس **Bacillus sp** .

(Guffanti et al., 1978,1980, Gee et al., 1980, Koyama et al., 1983, Mclaggan et al., 1984)

هـــذا ولم تلق الفطريات وخاصة الخيطية منها الإهتمام الكافي ولم يسجل إلا القليل من الفطريات المحبة أو المحتملة للقلوية العالية.

(Johnson, 1923, Batteley & Barlett, 1966, Matsushima et al., 1980, Hiura & Tanimnura, 1991, Khodair, et al., 1991, Salama et al.,1993)

كما أن العديد من الدراسات الفسيولوجية التي تمت على قدرة هذه الفطريات على إنتاج وإفراز الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز وعديدات التسكر لم تتضمن تأثير الرقم الهيدروجيني حيث تمت في أوساط قريبة من درجة التعادل (٦ ، ٦,٥) .

(Buck et al., 1968, Saker et al., 1985, Leal et al., 1969, Talboys & Busch, 1965, Bahkali , 1983,1997, Pitson et al., 1999).

لذا أستهدف مشروع البحث عزل فطريات محبة أو محتملة للقلوية من بعض بيئات المنطقة الغربية (مكة المكرمة) ومن ثم دراسة توزيعها وعزل أكثرها إنتشاراً ودراسة بعض صفاتها الفسيولوجية (النمو وإنتاجها للإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز وعديدات التسكر عند الأرقام الهيدروجينية القلوية) وذلك للأهمية التطبيقية للإنزيمات القلوية التي تلعب دوراً هاماً في التطبيقات الصناعية، ولإيضاح الدور الذي تقوم به هذه الكائنات في البيئة.

المواد والطرق المستخدمة

١- عينات التربة:

عينات التربة التي تمت دراستها هي تربة تحت سطحية (٥ - ٢٠ سم عمق) تم جمعها وفق الطريقة التي وصفها Johns et . at ., 1960 ، وهي عينات مختلطة يتم جمعها من عدة نقاط في نفس الموقع ثم يتم خلطها جيداً وحفظها في أكياس من البولي إيثلين.

٢- تحليل عينات التربة:

تم تقدير كل من رطوبة التربة، رقم الأس الهيدروجيني ومحتواها من الأملاح القابلة للذوبان في الماء وأيضاً المواد العضوية، وقد تم إستخدام الطرق التي تم عرضها بوساطة Jacson, 1958 .

٣- عد الفطريات المحبة أو المحتملة للقلوية التي تستوطن عينات التربة:

أ - الوسط الغذائي:

تم استخدام وسط سابورو الأجاري لعد الفطريات موضع الدراسة، تتركب البيئة الغذائية من (جرام / ليتر) جلوكوز ٤٠ - ببتون، ١٠ وآجار ٢٠. كما تم تعقيم محلول مائي ١٠٪ كربونات صوديوم منفرداً، وتم إضافته للبيئة الغذائية (تحت ظروف معقمة) للحصول على تركيز نهائي ١٪ وذلك لرفع رقم الأس الهيدروجيني للبيئة الغذائية إلى ١٠- ١٠,٥، كما تم أيضاً تزويد البيئة الغذائية بمضاد الحيوية كلورا مفينيكول (٥٠ مجم / ليتر وسط غذائي) لوقف نمو البكتيريا.

ب - طريقة العد:

تم إستخدام طريقة أطباق التخفيف (Johns et . at ., 1960) لعد الفطريات المحبة والمحتملة للقلوية التي تستوطن عينات التربة المختبرة، وتم التحضين عند درجة حرارة ٢٥ ± ١° م لمدة ٥ - ٧ أيام، بعدها تم عد المستعمرات (ثلاثة أطباق لكل عينة) وحساب متوسط أعداد الفطريات في جرام من التربة الجافة.

٤- عزل وتعريف الفطريات:

تم عزل المستعمرات النامية على الأطباق ومن ثم تنقيتها وحفظها على نفس البيئة الغذائية سابقة الذكر تمهيداً لتعريفها. ثم تعريف العزلات الفطرية إلى مستوى الجنس و / أو النوع وذلك بالفحص المجهري وإستخدام مفاتيح التعريف التالية:

Domsch et. al., 1980 ; Domsch and Games, 1972; Barnett and Hunter, 1972 ; Booth, 1971 ; Barron , 1968 , Raper and Fennel , 1965; Raper and Thom, 1949 .

٥- التعرف على مدى حب بعض العزلات الفطرية للقلوية:

تم الـتعرف عـلى مدى حب بعض العزلات الفطرية للقلوية بتقدير معدل نموها تحت ظروف منضبطة من الرقم الأيدوجيني (من ٦ إلى ١١) وذلك بإستخدام وسط سابورو الغذائي السائل (للحصول على وزن الغزل الفطري الجاف).

تم استخدام نظامين من محاليل ضبط الرقم الأيدروجيني:

- كربونات الصوديوم: Na_2CO_3 - بيكربونات الصوديوم $NaHCO_3$ للرقم الايدرورجيني من (٩ إلى ١١)، وتم تعقيم المحلول بالترشيح.
- فوسفات الصوديوم ثنائي الهيدروجين NaH_2pO_4 - أيدر وكسيد الصوديوم $NaOH$ للرقم الايدروجيني من (٦ إلى ٨).

تم إستخدام دوارق مخروطية - بكل منها ٢٥مل وسط غذائي منضبط الرقم الايدروجـيني للـتعرف على معدل النمو بتقدير الوزن الجاف للغزل الفطري بعد سـبعة أيـام من التحضين على هزاز أفقي عند درجة حرارة ٢٥± ١° م، تم الحقن بالأقـراص (ذات قطر ٢/١ سم) من مزارع فطرية أجارية عمرها ٧ أيام والتي تم نقـلها إلى كـل دورق (ثـلاث مكـررات لكل معاملة)، ولتقدير الوزن الجاف للميسـيليوم، يـتم الترشيح (خلال أوراق ترشيح واتمان رقم ٤) وغسيل الغزل الفطـري عدة مرات بالماء المقطر، ثم التجفيف عند درجة حرارة ٨٠°م حتى ثبات الوزن ٢٤ ساعة.

تم أيضاً قياس رقم الأس الهيدروجيني في بداية ونهاية كل تجربة (بعد سبعة أيام).

٦- الدراسات الفسيولوجية لبعض العزلات الفطرية المحبة والمحتملة للقلوية:

لتحديد الأهمية البيئية لهذه العزلات فقد تم دراسة بعض صفاتها الفسيولوجية وهي على النحو التالي:

أولاً: قدرة بعض العزلات الفطرية المحبة للقلوية اختياراً (ثلاث عزلات) والمحتملة للقلوية (عزلتان) على أفراز الأنزيمات المحللة للنشأ، السليلوز و / أو المواد البكتينية:

أجريت الدراسة على خمس عزلات فطرية ثلاث منها محبة للقلوية اختياراً وهي:

Acremonium strictum, Cylindrocarpon heteronema, Fusarium moniliforme.

وعزلتان محتملة للقلوية وهي:

Rhizoctonia solani, Aspergillus flavipes

الأوساط الغذائية المستخدمة:

الوسط الغذائي المستخدم لاختبار قدرة الغزلات الفطرية على تشييد وافراز بعض الأنزيمات المحللة (أميليز، سليوليز، بولى جالاكتيورونيز) هي بيئة تشابك وتحتوي (جم / لتر) ٢جم نترات صوديوم، ١جم فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين، ٠,٥جم كبريتات ماغنيسيوم، ٠,٥جم بوتاسيوم، ٠,٠١جم كبريتات حديدوز، والمصدر الكربوني - بكتين موالح ١٠جم **Citrus pectin** (في حالة استحثاث العزلات على تشييد إنزيم بولى جالاكتيورونيز) أو ١٠جم كاربوكسى ميثايل سليلوز **Carboxymethyl cellulose** (في حالة إستحثاث

العزلات على تشييد إنزيم السليوليز). وقد تم توزيع البيئـــات الغذائيـــة هـــذه في دوارق مخروطية (سعة ٢٥٠ مل، بكل منها ١٠٠ مل بيئة غذائية). كما تم ضـــبط رقم الأس الهيدروجيني إلى (٧) بإستخدام المحلول المنظم فوسفات الصوديوم ثنـــائي الهيدروجيني – هيدروكسيد الصوديوم (Dawson et al 1969) الذي تم تعقيمـــــة منفرداً ومن ثم إضافته للبيئة الغذائية بعد تعقيمها.

تم تلقيح كل دورق بقرص (قطر ٩مم) من كل مـــن مـــزارع الفطريـــات المختبرة (عمرها سبعة أيام) المنماة على بيئة آجار دكستروز البطاطس، ومـــن ثم تم تحضين الدوارق الملقحة (ثلاث مكررات لكل تجربة) عند درجة حرارة ٣٠°م علـى هزاز أفقي لمدة سبعة أيام.

تقدير الوزن الجاف للمسليوم:

رشحت المزارع بإستخدام ورق الترشـــيح Whattman No.4 وتم غســـل الميسليوم عدة مرات بالماء المقطر تم تجفيفه في فرن عند درجـــة حـــرارة ٨٠°م إلى ثبات الوزن ٢٤ ساعة.

قياس رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي بعد نمو الفطريات:

تم قياس رقم الأس الهيدروجيني لرواشح الفطرية وذلك باســـتخدام جـــهاز (Corning, Model 120).

تقدير نشاط الأنزيمات:

تم ترشيح المزارع الفطرية باستخدام ورق الترشيح Whattman No.4 ثم تم ترويق راشح كل مزرعة بإستخدام الطرد المركزي لمدة ٣٠ دقيقة عند درجـــة ٣°م (٣٠٠٠د/د) والراشح الرائق (يمثل الأنزيم الخام) Crude enzyme تم حفظة عنـــد درجة صفر°م.

أ – تقدير نشاط إنزيم بولى جلاكتيوروني ر(PG) Polygalacturonase:

تم تقدير نشاط (PG) في راشح العزلات الفطرية، وذلك بقياس السكريات المختزلة التي تحررت من حلمأة بكتين الموالح Citrus pectin باستخدام طريقة DNS (Dinitrosalicylic acid) التي وصفها ميلر (1959) , Miller.

يتكون خليط التفاعل من ٠,٤ مل إنزيم خام مضاف له ١مل (٢ مجم/مل بكتين موالح في محلول منظم من سترات الفوسفات رقم الأس الهيدروجيني 5) وتحضن المحتويات عند درجة ٣٥°م لمدة ساعتين، كما تم إستخدام الأنزيم الخام السابق غليه كضابط.

تعريف وحدة نشاط الإنزيم (PG) بكمية الأنزيم / مل من خليط التفاعل والتي – تحت ظروف التجربة – تساعد على تحرير سكريات مختزلة تعادل ١٠ ميكروجرام / ساعة من الجلوكوز.

ب – تقدير نشاط إنزيم السليوليز:

وذلك بقياس السكريات المختزلة التي تحرر نتيجة لحمأة كربوكسي ميثايل سليلوز CMC بإستخدام طريقة DNS التي وصفها ميلر (1959) , Miller، يتضمن خليط التفاعل ١مل (من ٦مجم / مل كربوكسى ميثايل سليلوز Carboxymethyl cellulose في محلول ضابط من فوسفات السترات ، رقم الأس الهيدروجيني (5) مضاف له ٠,٤ مل من الأنزيم الخام، ثم التحضين عند ٣٥°م لمدة ساعتين، كما تم إستخدام الإنزيم الخام السابق غليه كضابط.

تتمثل وحدة نشاط الإنزيم بكمية الأنزيم في ١مل من خليط التفاعل اللازمة لتحرير سكريات مختزلة تعادل ١٠ ميكروجرام جلوكوز / ساعة وذلك تحت ظروف التجربة.

ج ـ – استكشاف قدرة العزلات على تشييد إنزيمات الأميليز:

تم تقدير نشاط إنزيمات الأميليز بإستخدام بيئة تشابك الأجارية المحتوية على ٠,٥% نشأ قابل للذوبان في الماء كمصدر وحيد للكربون (Collins, 1969) ومن ثم قياس قطر منطقة التحليل بعد التحضين عند درجة حرارة ٣٠°م لمدة يومان، أربعة أيام ثم سبعة أيام.

ثانياً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على إنتاج الأنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز بواسطة الفطريات المحبة للقلويات إختياراً.

أجريت الدراسة على الفطرتين <u>Acremonium</u> <u>strictum</u>, <u>Cylindrocarpon</u> <u>heteronema</u> المحبة للقلوية اختياراً لتبيان تأثير كل من أرقام الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي (٧ ، ٩ ، ١٠) وفترة التحضين (٥ ، ١٠ ، ١٥يوم) على معدل النمو وأيضاً على تشييد الأنزيمات المحللة للمواد البكتينية (PG , PME) والسليلوز (انزيم السليوليز) على التوالي. والمصدر الكربوني ١٠جم بكتين موالح (Citrus pectin) في حالة استحثاث الفطريات المختبرة على تشييد وإفراز الأنزيمات البكتينية بولي جالاكتيورونيز PG وبكتين ميثايل أستريز PME أو ١٠جم كاربوكسي ميثايل سليلوز (CMC) في حالة استحثاث العزلات الفطرية على تشييد وإفراز إنزيمات السليوليز.

تم توزيع البيئات الغذائية في دوارق مخروطية (سعة ٢٥٠مل، لكل منها ١٠٠مل بيئة غذائية) كما تم ضبط رقم الأس الهيدروجيني (٧) بإستخدام المحلول المنظم فوسفات الصوديوم ثنائي الهيدروجيني –هيدروكسيد الصوديوم والقيم (٩ ، ١٠) باستخدام المحلول المنظم جليسين – هيدروكسيد الصوديوم (Dawson et . al, 1969).

تم تعقيم المحاليل المنظمة منفردة ومن ثم تم إضافتها إلى البيئة الغذائية بعد تعقيمها. تم تلقيح كل دورق بقرص (قطر ٩ مم) من المزرعة الفطرية (عمر سبعة أيام) المنماة على بيئة آجار دكستورز البطاطس، ومن ثم حضنت الدوارق الملقحة (ثلاث مكررات لكل تجربة) عند درجة حرارة ٣٠°م على هزاز أفقي للفترات ٥، ١٠، ١٥ يوماً.

تم تقدير الوزن الجاف للميسليوم، قياس رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي الملقح في نهاية فترات التحضين وأيضاً تحضير الانزيم الخام وفق ما سبق إيضاحه.

تقدير نشاط الأنزيمات:

تم ترويق راشح كل مزرعة باستخدام الطرد المركزي لمدة (٣٠) دقيقة عند درجة ٣°م وبمعدل ٢٠٠٠د/د والراشح الرائق يعتبر الأنزيم الخام.

أ- تقدير نشاط إنزيم بكتين ميثايل استريز

Pectin Methylesterase (PME)

تم تقدير نشاط إنزيم بكتين ميثايل إستريز باستخدام طريقة المعايرة التي وصفها **Olutola & Akintunde (1979)** وتم تعديلها بواسطة **Osagie & Obuekwe (1991)** وفيها يتم معايرة مجاميع الكربوكسيل المتحررة باستخدام محلول ٠,٠٢ عياري هيدروكسيد الصوديوم. ويستخدم في التجربة الضابطة الأنزيم الخام السابق غليه.

ب - تقدير نشاط إنزيم بولي جالاكتيورونيز

Polygalacturonase (PG)

تم تقدير نشاط **PG** من رواشح العزلات الفطرية بالطريقة الضوئية، وذلك بقياس السكريات المختزلة والتي تحررت بحلمأة بكتين الموالح باستخدام طريقة

(DNS) التي وصفها (1959) Miller. خليط التفاعل والتجربة الضابطة كما سبق إيضاحه.

تم أيضاً استخدام جهاز قياس اللزوجة Ostwald viscometer (BSU, size D, Gallenkamp)، يحتوي خليط التفاعل ٢مل من الأنزيم الخام + ١٨مل من (١٠ مجم / مل بكتين مواخ في محلول منظم سترات فوسفات)، رقم الأس الهيدروجيني (5) حضن الخليط عند درجة حرارة ٣٠°م وتم قياس درجة اللزوجة على فترات (كل ١٠ دقائق لمدة ٣٠ دقيقة) التجربة الضابطة استخدام فيها إنزيم خام سبق غليه، تم التعبير عن نشاط إنزيم بولي جالاكيتورونيز بنسبة الانخفاض في لزوجة وسط بكتين المواخ حسب وصف Norkrans & Hammerstrom (1963).

جـ – تقدير نشاط إنزيم السليوليز:

تم تقدير نشاط السليوليز بالطريقة الضوئية بقياس السكريات المختزلة نتيجة لتحليل كاربوكسي ميثايل سليلوز Carboxymethyle Cellulose وذلك باستخدام طريقة (DNS) التي وصفها (1959) Miller. خليط التفاعل والتجربة الضابطة كما يبق بيانه.

كما تم أيضاً تقدير نشاط إنزيم السليوليز بتعيين نسبة الانخفاض في لزوجة محلول كاربوكسي ميثايل سليلوز وذلك حسب ما سبق وصفه فيما عدا أن خليط التفاعل يحتوي ٢ مل من الأنزيم الخام مضاف إليه ١٨مل من (٦مجم / مل كاربوكسي ميثايل سليلوز).

ثالثاً : تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على النمو وإنتاج عديدات التسكر بواسطة الفطرة المحبة للقلوية اختيارا <u>Acremonium strictum</u>

أجريت الدراسة على الفطرة **A. Strictum** أكريمونيـــم ســتريكتم المحبـــة للقلوية اختياراً لإيضاح قدرتها على النمو وإنتاج عديدات التسكر خارج الخلايـــا في البيئة المتعادلة رقم الأس الهيدروجيني (٧) والقلوية رقم الأس الهيدروجيـــني (٩) ولفترات التحضين (٣ ، ٤ ، ٥ ، ٧ ، ١٠ ، ١٥، ٢٠ يوم).

الوسط الغذائي المستخدم:

تحتوي البيئة المستخدمة في الدراسة على مكونات الآتية (جم / لتر) ١٠جـم جلوكوز glucose، ٥جم مســتخلص خمـيرة Yeast extract ٥ جـم ببتـون Peptone، ١جم فوسفات البوتاســيوم ثنائيــة الهيدروجــين (KH2PO4)، ٠,٢ كبريتات ماغنسيوم ($Mg_2\ SO_4\ 7H_2O$). وتم توزيعها في دوارق مخروطية الشـــكل إيرلنير (سعة ٢٥٠مل، لكل منها ١٠٠مل بيئة غذائية) وذلك بعد ضبـــط رقـــم الأس الهيدروجيني إلى (٩) بإستخدام محلول المنظـــم جليســين – هيدروكســيد الصوديوم ورقم الأس الهيدروجيني (٧) بالمحلول المنظم فوسفات الصوديوم ثنـــائي الهيدروجين – هيدروكسيد الصوديوم .DAWSON et. al. (1969)

تم تلقيح كل دورق بقرص (قطر ٩مم) من مزرعة فطرية عمرها سبعة أيـــام منماة على بيئة أجار دكستروز البطاطس، ومن ثم حضنت الدوارق الملقحة عنـــد درجة ٣٠°م على هزاز أفقي موديل (KS 500) للفترات التاليـة : ٣ ، ٤ ، ٥، ٧، ١٠ ، ١٥ ، ٢٠ يوم وباستخدام ثلاث مكررات لكل تجربة.

تم تقدير الوزن الجاف للغزل الفطري وكذلـــك رقـــم الأس الهيدروجيـــني لراشح كل فترة تحضين وفق ما سبق إيضاحه.

تقدير الجلوكوز المتبقي في الراشح:

تم تقدير الجلوكوز المتبقي في الراشح لكل فترة تحضين بإســـتخدام طريقـــة سوموجي (Somogyi , 1952).

تقدير عديدات التسكر في الراشح:

تم تقديـــر عديـــدات التســـكر في الراشـــح باســـتخدام طـُــريقة (Dubois et. al , 1956) حيـــث أضيف إلى ١مل من الراشح ٢مل كحول إيثيلي (٩٥٪) مـــبرد ، وترك الخليط لمدة ٢٤ ساعة عند درجة ٤°م، ثم تم فصل الراسب بـــالقوة الطـــاردة المركزية (١٥٠٠ لفة / د لمدة ١٠ دقائق) وتم تبخير الكحول وغسل الراسب مرتين بالكحول.

ثم أضيف الماء (٥مل) لإذابة عديدات التسكر. وبعد ذلك أضيف إلى ٢مل مـــن الخليط ١مل محلول الفينول ٥٪ و ٥مل من حمض الكبريتيك المركز. وتركت الأنابيـــب لمدة ١٠ دقائق بعدها تم الخلط. وبعد مرور من ١٠ – ٢٠ دقيقة عند درجة ٣٠°م تم قياس الكثافة اللونية عند موجة طولها ٤٩٠ ن م.

التحليل الإحصائي:–

تم تحليل النتائج إحصائياً بإجراء تحليل التباين (Oneway Anova) أقل فرق معنوي عند ٥٪ بإستخدام برنامج SPSS بالحاسب الآلي.

النتائــج

أولاً: توزيع وكثافة الفطريات المحبة للقلوية في تربة بيئــات منطقــة مكــة المكرمة.

يوضح الجداول (١) صفات عينات التربة المختبرة، ويتضح منـــها تبـاين مستوى رطوبة التربة حيث تزداد في عينات تربة المرتفعات، وكذلك عينة الموقـــع (VI) وهو الأقرب لها (١٢٪ إلى ١٩٪). يلاحظ أيضاً أن عينات تربـة الشـاطئ الداخلية (B_1) العارية من النباتات و (B2) المغطاة بعشيرة الرطريط ذات مســتوى مرتفع من الملوحة (حوالي ١٠٪) بينما العينات الأقرب إلى البحـــر ذات مســتوى منخفض نسبياً من الأملاح القابلة للذوبان في الماء (١٪ إلى ٤٪).

هذا وتربة الأراضي المنخفضة أيضاً ذات مستوى مرتفع من الأملاح مقارنـة بالقيم المتحصل عليها من تحليل عينات السهل الساحلي والمرتفعات، ويلاحظ أنهـا ممثلة بمستوى (٢٪) في التربة التي تجرى بها عمليات الاستصلاح بينما في نفس بيئـة الأراضي المنخفضة إرتفع مستوى الملوحة إلى (١١٪) في التربة الـــتي تســتوطنها عشيرة السويدا **<u>Suaeda</u> <u>monoica</u>**.

التربة العارية من النباتات (A1 - B1) محتواها من المواد العضوية منخفـــض مقارنة بالتربة التي تنمو فيها نباتات برية أو مزروعة.

فيما يخص رقم الأس الهيدروجيني، تشير النتائج إلى أن جميع عينات التربـــة قلوية تتراوح القيم بين (٨,١–٩,٢).

يبين الجدول (٢) أعداد الفطريات المحبة للقلوية التي تستوطن عينات التربـة المختبرة، وتشير النتائج إلى أن جميع عينات التربة تحت الدراسة تستوطنها فطريـات محبة للقلوية (فيما عدا عينات الشاطئ (B1, A2', B2)) وبـأعداد تـتراوح بـين ٠,٥٢ إلى ٢٧٩×١٠^{٢} لكل جرام تربة مجففة.

تشير النتائج أيضاً إلى تأثير بعض عوامل التربة الأخرى على كثافة الفطريات المحبة للقلوية التي تستوطنها، خاصة مستوى الملوحة والمحتوى العضوي. ففي عينة الشاطئ (A_1) حيث مستوى الملوحة منخفض (١,٣٣٪) تم عزل فطريات محبة للقلوية ولكن بأعداد قليلة نسبياً (٠,٥٢ × ١٠^{٢}) بينما لم تظهر فطريات في عينات تربة الشاطئ الأخرى التي تراوحت نسبة الملوحة بها بين ٤٪ إلى ١٠٪، فقد ازدادت أعداد الفطريات المحبة للقلوية في عينة تربة الموقع IV حيث مستوى الملوحة مرتفع (١١٪) لكن أيضاً ارتفع المحتوى العضوي إلى ١,٦٤٪. في عينة الموقع VIII ازدادت كثافة الفطريات المحبة للقلوية وكان مستوى الملوحة متوسط لكن المحتوى العضوي مرتفع نسبياً (١,٦٢٪).

تتضمن الفطريات النامية على أطباق العد عشرين جنسا فطريا بالإضافة إلى غزل فطري عقيم (لا ينتج وحدات تكاثرية، شفاف وملون)، يمكن الاشارة إلى هذه الفطريات على أنها محبة للقلوية (جدول ٣) حيث تم عزلها على بيئات غذائية شديدة القلوية (رقم الأس الهيدروجيني ١٠,٥)، تضم هذه العزلات فطريات خميرة وفطريات خيطية، يختلف أعداد الأجناس بإختلاف المواقع، عدد كبير في الموقع VIII (١٣ جنس) يتبعه الموقع III، والموقع V (سبعة أجناس) في كل منهما وجنسين في كل من المواقع VII , VI , IV بينما لم يسجل غير جنس واحد في الموقع I.

الجنس فيوازريم <u>Fusariun</u> كان ممثلاً في معظم العينات المختبرة (خمس عينات) أي درجة تكراره عالية، بينما كل من <u>الأسبيرجيللاس</u> **<u>Aspergillus</u>** والجنس <u>جيوتريكوم</u> **<u>Geotrichum</u>** ذوي درجة تكرار متوسط (تواجدت في أربع وثلاث عينات تربة على التوالي)، وبقية الأجناس الفطرية كانت ذات درجة تكرار منخفضة (عزلت من عينة أو عينتين فقط).

جـنس الفـيوزاريم ذو المعدل التكراري العالي يمثل ٤ إلى ٧٨٪ من العدد الكلي للفطريات وجنس الأسبيرجيلاس ذو المعدل التكراري المتوسط تواجد بنسبة ١٢ إلى ٨٠٪ من العدد الكلي للفطريات.

مجموعة أخرى من الفطريات تمثلت إستجابتها بزيادة معدل النمو مع زيادة قلوية الوسط الغذائي حتى الرقم (٨) وكانت شديدة الحساسية للرقم الهيدروجيني (٩)، تضم هذه المجموعة الفطريات:

Fusarium monilifoiliorme , Paecilomyces divaricata, Aspergillus flavipes, Cunninghamella elegans, Penicillium notatun ,

والفطـرة **Acremonium murorum.**، كما أن هناك مجموعة فطرية ثالثة أقـل حساسـية حيـث يقـل معدل النمو عند الرقم الهيدروجيني (١٠) الفطرة **Cylindrocapon heteronema** أو عـند الـرقم الهيدروجـيني (١١) الفطـرة **Acremonium strictum**.

وفـيما يخص تقدير مدى حب معظم العزلات الفطرية للقلوية جدول (٤) تشـير النـتائج إلى إختلاف إستجابة الأنواع الفطرية (١١ نوعاً فطرياً تنتمي إلى عشـرة أجـناس) لـرقم الأس الهيدروجيني للبيئة الغذائية في بداية التجربة، تمت ملاحظـة زيادة في الوزن الجاف للغزل الفطري عند زيادة الرقم الهيدروجيني فقط من (٦) إلى (٧) ويتبع ذلك نقص واضح في الوزن، يتمثل هذا السلوك في نمط نمو الفطريات

Rhizopus nigicans و **Scopulariopsis brevicaulis, Beauveria bassiana**

فيما يخص تغير رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي نتيجة لنمو العزلات جـدول (٥)، فقد لوحظ أن التغيير كان محدوداً للغاية وتمثل في إنخفاض رقم الأس الهيدروجـيني في الأوسـاط الغذائية ذات الرقم الهيدروجيني (٦ – ٨) للفطريات **Penicillium notatum** و **Beauveria bassiana Rhizops nigricans** حيث تراوحت أرقام الأس الهيدروجيني في نهاية التجربة بين ٢,٣ إلى ٣,٨١.

جدول (١) بعض صفات عينات التربة المختبرة

الموقع	عينة التربة	مستوى الرطوبة (٪)	الأملاح القابلة للذوبان (٪)	المواد العضوية (٪)	رقم الأس الهيدروجيني
I	A1	١٠,١١	١,٣٣	٠,٣٣	٩,٠
	B1	٣,٩٥	٩,٥٧	٠,٧٤	٨,١٣
II	A2	٥,٠١	٤,١٠	١,١٧	٨,٥٧
	B2	٣,٨٣	١٠,٠٦	١,٤٨	٨,١٠
III		٣,١٧	٢,٢٧	١,١٦	٨,٧٥
IV		٩,٠٩	١١,٢٠	١,٦٤	٨,٩٦
V		٣,٠٣	٠,١٤	١,١٩	٨,٧
VI		١٢,٤٨	٠,٤١	١,٣٧	٩,٢
VII		١١,٧٦	١,٣٦	١,٤٦	٨,٤
VIII		١٩,٣٢	١,٥٨	١,٦٢	٨,٦

جدول (٢) أعداد الفطريات المحبة للقلوية (× ١٠ [٢]) / جرام تربة مجففة) في عينات التربة المختبرة

البيئة	الموقع	متوسط عدد الفطريات
* الشاطئ	I(A1) (B1)	٠,٥٢
** الشاطئ	II (A2) (B2)	– –
* الكعكية	III	١٦,٦٧
** الكعكية	IV	٠,٨٦
*** السهل الساحلي	V	١٤,٠
** السهل الساحلي	VI	٢٨,٠
*** المرتفعات	VII	٢٩,٠
** المرتفعات	VIII	٢٧٩,٠

* تربة عارية.

** تربة تستوطنها عشائر نباتية برية.

*** تربة مزروعة.

جدول (٣) الأجناس الفطرية، كثافتها النسبية للأعداد الكلية وتكرار وجودها في العينات

الأجناس الفطرية		الكثافة النسبية في عينات التربة							درجة تكرار تواجدها في العينات
		I (A1)	III	IV	V	VI	VII	VIII	
أسبير جيللوس	*Aspergillus*	-	٣١,٥	٨٠,٠	٥٢,٤	-	-	١٢,٢	متوسط
بنسيليوم	*Penicillium*	-	-	-	٤,٨	-	-	-	منخفض
سيفالوسبوريوم	*Cephalosporinm*	-	٦,٥	-	-	-	-	-	منخفض
كيرفيولاريا	*Curvularia*	-	٩,٨	-	-	-	-	-	منخفض
سيليندروكاربون	*Cylindrocarpon*	-	١.١	-	-	-	-	-	منخفض
فيوزاريم	*Fusarium*	-	٣٩,١	-	٩,٥	٧٨,١	٥٧,١	٤,١	عالي
جيوتريكوم	*Geotrichum*	-	٥,٤	-	٢,٤	-	-	٦,٨	متوسط
هيوميكولا	*Humicola*	١٠٠	-	-	-	-	-	٨,١	منخفض
رايزوبس	*Rhizopus*	-	-	٢٠,٠	-	-	-	-	منخفض
ترايكوفيتون	*Trichophyton*	-	-	-	٧,١	-	٤٢,٩	-	منخفض
أكريمونيم	*Acremonium*	-	-	-	-	٢١,٩	-	١,٤	منخفض
سكوبيولاريوبسيس	*Scopulariopsis*	-	-	-	-	-	-	٢٥,٧	منخفض
بسيلوميسيس	*Paecilomyces*	-	-	-	-	-	-	١٣,٥	منخفض
سيبدونيم	*Sepedonium*	-	-	-	-	-	-	١٢,٢	منخفض
مونيليا	*Monilia*	-	-	-	٩,٥	-	-	-	منخفض
كننجيها ميللا	*Cunninghamella*	-	-	-	-	-	-	٦,٨	منخفض
داكتيلاريا	*Dactylaria*	-	-	-	-	-	-	٤,١	منخفض
أوريوبازيديم	*Aureobasidiun*	-	-	-	-	-	-	٢,٧	منخفض
بوفيريا	*Beauveria*	-	-	-	-	-	-	١,٤	منخفض
أويديودرون	*Oidiodendron*	-	-	-	-	-	-	١,٤	منخفض
ميسيليوم عقيم	*Sterile Mycelium*	-	٦,٥	-	١٤,٣	-	-	-	منخفض

جدول (٤) وزن الغزل الفطري الجاف (مجم) بعد سبعة أيام تحضين عند درجات منضبطة من الأس الهيدروجيني

الفطرة	الوزن الجاف للغزل الفطري (مجم) عند درجات الأس الهيدروجيني المبدئية					
	٦	٧	٨	٩	١٠	١١
Cylindrocarpon heteronema	٢٤٠	٢٤٥	٢٤١	٢٩٠	٢٧٩	٧٤
Acrmoninm strictum	١٣٢	١٣٨	١٦٦	١٧٠	١٨٢	٧٥
Acremonium murorum	٤٨٥	٦٨٠	٥٨٠	٢٩٢	١٨٣	٦٢
Fusarium moniliforme	٢٣٠	٣١٥	٢٩٥	١٥٠	١٤٠	١٤٥
Paecilomyces divaricata	١١٨	١٢٩	١٥٠	٩٨	٩٦	٢٨
Aspergillus flavipes	٢٦٥	٢٩٥	٣٤٥	٢٢٥	١٧٠	٥٧
Cunninghamella elegans	٣٠٥	٢٨٥	٣٠٠	١٣٢	٤٧	٤٢
Penicillium notatum	٢٤٠	٢٥٠	٢٥٠	١٨٠	١٣٥	١٢٥
Rhizopus nigricans	٢٤٧	٢٥٧	٢٢٧	٥٢	٥٤	٤٢
Scoupulariopsis brevicaulis	١٣٧	١٦٥	١٢٥	٩٠	٩٢	٨٦
Beauveia bassiana	١٧٠	١٨٠	١٥٨	٩٨	٦٢	٦٤
L. S. D. at 0.05	**Between treatment** ١٩			**Withen treatment** ١٦		

جدول (٥) أرقام الأس الهيدروجيني لبيئات منضبطة الأس الهيدروجيني نتيجة لنمو الفطريات (٧ أيام تحضين)

الفطرة	الوزن الجاف للغزل الفطري (مجم) عند درجات الأس الهيدروجيني المبدئية					
	٦	٧	٨	٩	١٠	١١
	رقم الأس الهيدروجيني في نهاية التجربة					
Cylindrocarpon heteronema	٦,٣٤	٧,٠٣	٧,٢٣	٩,٦١	٩,٤٥	١٠,١٤
Acrmoninm strictum	٦,١٠	٦,٨٠	٧,٠٤	٩,٣٧	٩,٣٨	٩,٩١
Acremonium murorum	٦,١٢	٦,٨١	٧,١٨	٩,٦٣	٩,٥٦	١٠,١٢
Fusarium moniliforme	٦,٠١	٦,٧٧	٧,١٥	٩,٣٥	٩,٧٠	٩,٧٨
Paecilomyces divaricata	٥,٨٩	٦,٥٩	٦,٨٦	٩,٤٤	٩,٤٥	١٠,٠٠
Aspergillus flavipes	٦,١٢	٦,٨٠	٧,٢٢	٩,٧٢	١٠,٠٦	١٠,١٧
Cunninghamella elegans	٦,١٤	٧,٠٨	٧,٤٨	٩,٦١	١٠,٠٧	١٠,٢٧
Penicillium notatum	٣,٢٧	٣,٥٤	٣,٧٥	٩,٣٩	١٠,٢٠	١٠,٣٥
Rhizopus nigricans	٢,٣٠	٢,٣٠	٢,٣٠	١٠,٠٠	٩,٦٣	١٠,٢٧
Scoupulariopsis brevicaulis	٦,٢٥	٦,٩٩	٧,٥٤	٩,٦٢	١٠,٠٣	١٠,٠٩
Beauveia bassiana	٣,٠٩	٣,٣٦	٣,٨١	٩,٥٦	١٠,١٢	١٠,٢٠

ثانياً: قدرة بعض الغزلات الفطرية المحبة للقلوية اختياراً (ثـــلاث عـــزلات) والمحتملة للقلوية (عزلتان) على أفراز الإنزيمات المحللة للنشا، السليلوز و/ أو المــواد البكتينية:

تشير النتائج المتحصل عليها جداول (٦ – ٧ – ٨) إلى قـــدرة العـــزلات الفطرية المختبرة على النمو في بيئة تشابك المزودة بالنشا، البكتين، أو كربوكســـي ميثيل سليلوز كمصادر وحيدة للكربون. وكان معدل النمو على البيئـــة الســـائلة المحتوية بكتين جدول (٧) أعلى منه على بيئة السليلوز جدول (٨) كما أن نمو هذه العزلات أدى إلى تغيير واضح في رقم الأس الهيدروجيني للبيئات الغذائية الســـائلة المحتوية بكتين اوسليلوز جدول (٨ ، ٧)، تمثل التغيير في تحويـــل البيئـــة الغذائيـــة للقلوية في مزارع الفطريات المحبة للقلوية اختياراً..

(**Acremonium strictum** , **Cylindrocarpon heteronema** , **fusarium moniliforme**)

وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (**Horikoshi & Akiba , 1982**) عـــن قـــدرة الكائنات المحبة للقلوية على تغيير رقم الأس الهيدروجيني إلى الرقم الملائم لنموهـــا. بينما في مزارع الفطريات المحتملة للقلوية **Aspergillus** , **Rhizoctonia solani**) **flavipes**).

تحولت البيئة للحامضية وقد يعزى ذلك إلى الإنتاج المتزايد نسبياً للأحمـــاض العضوية مما يؤدي إلى عدم كفاءة المحلول المنظم المستخدم. هذه النتائج تتوافق أيضاً مع ما توصل إليه باحثين آخرين فقد أشار (**Cooke & Whipps , 1993**) إلى قـدرة الفطريات خلال نموها على تغيير رقم الأس الهيدروجيني لبيئتها المحيطة، ولكن يبقـى التساؤل عن الكائنات المحبة للقلوية التي تستوطن التربة الحامضية، هل تتواجـــد في إحدى الصور الكامنة أم تغير البيئة الدقيقة **Micro-habitat** المحيطة بها بما يتـــلاءم مع إستمرار نشاطها الخضري.

جميع العزلات المختبرة تحلمئ البوليمرات المستخدمة كمصدر وحيد للكربون (بكتين، كربوكسي ميثيل السليلوز أو النشا) ولكن تتباين قدرتها على تشييد وافراز الأنزيمات المقابلة .

تشير النتائج الموضحة في الجدول (٦) إلى أن الفطريات موضع الدراسة قادرة على إنتاج إنزيمات الأميليز المحللة للنشا، والفطريات المحتملة للقلوية .Asp Flavipes و R. solani كانت الأكثر نشاطاً، تليها الفطريات المحبة للقلوية إختياراً A. stictun و F. moniliorme و C. heteronema،وقد لوحظ أيضاً زيادة في مساحة منطقة التحليل بزيادة فترة التحضين من يومين إلى أربعة أيام ثم إلى سبعة أيام. يؤيد هذه النتائج ما توصل إليه عديد من الباحثين درسوا مجموعة من الفطريات دون تحديد علاقتها بالقلوية (Garret , 1963 ; Alexander , 1982) وبعض الأنواع البكتيرية المحبة للقلوية إجباراً أو اختيارا. (Khodair et al . ,1991 .; Salama et . al. , 1993)

تظهر النتائج المبنية في الجدول (٧) أن إضافة بكتين المو الخ للبيئة الغذائية كمصدر وحيد للكربون إستحث جميع العزلات على تشييد وإفراز إنزيم بولى جالا كتيورونيز Polygalacturonase (PG)، وقد تفوقت الفطرة المحبة للقلوية إختياراً A. strictum في إنتاج الإنزيم تليها الفطريات (في ترتيب تنازلي) المحتملة للقلوية A. flavipes، والمحبة القلوية C. heteronema و F. moiliforme، ثم المحتملة للقلوية R. solani، كما يلاحظ أيضاً من النتائج أن معدل إنتاج الإنزيم بولي جالاكتيورونيز PG ليس له علاقة بمعدل نمو الفطرة المنتجة له. وإن قدرة العزلات على تشييد الإنزيم يتم في البيئة المائلة للقلوية (الثلاث فطريات المحبة للقلوية إختياراً) وأيضاً في البيئة المائلة للحموضة مزارع الفطريات المحتملة للقلوية .Asp (Flavipes و R. solani). قدرة العزلات المختبرة على حلمأة البكتين تتوافق مع ما ذكره Rombouts & Pilnik (1980) عن تحلل المواد البكتينية في البيئات الطبيعية بواسطة نظم إنزيمية Pectolytic enzymes تفرزها عديد من الكائنات الدقيقة

(بكـــتريا وفطـــريات) المـــترممة والممرضـــة للنباتات، وقد تم تنقية وتوصيف هذه الإنزيمات التي تم عزلها من مزارع العديد من الفطريات منها:

Botrytis cinerea , (Agunilar Huitron, 1987) Aspergillus sp (Leone , van Den Heuvel , 1987) Fusarium moiliforme (Marcus et. al 1986) Rhizoctonia solani , (De Lorenzo et. al., 1986) , Trichoderma koningii (Fanelli et. al., 1987) Verticillium species (Bahkali , 1983:1997).

تشـــير النتائج الموضحة في الجدول (٨) أن تزويد البيئة الغذائية بكربوكسي ميـــثايل (CMC) كمصــــدر وحـــيد للكربون قد إستحث جميع العزلات الفطرية المختـــبرة عـــلى إنتاج النظام الإنزيمي سليوليز **Cellulase Complex**، كما لوحظ قليل من التفاوت في ترتيب هذه الفطريات من حيث قدرتها على إنتاج هذا النظام الإنزيمي فكانت الفطرة **Asp. Flavipes** (المحتملة للقلوية) أكثر الفطريات المختبرة قـــدرة عـــلى إنتاج السليلوز، والفطرة **A. stictum** في المرتبة الثانية تليها تنازلياً الفطـــرة المحـــبة للقلوية **C. heteronema**، والفطرة المحتملة للقلوية **R. solani** و الفطـــرة المحبة للقلوية **F. moniliforme**، ويلاحظ أيضاً أن معدل تشييد السليوليز بواسطة الفطريات المختبرة ليس له علاقة بمعدل نموها، وهذا يتفق مع ما توصل إليه **(Greaves, 1971)** الـــذي أشـــار إلى أنـــه لا توجد علاقة بين معدل النمو وإنتاج السليوليز بواسطة الفطريات. كما أن تشييد هذا النظام الإنزيمي يتم في البيئة المائلة للقلوية، وتلك المائلة للحموضة، كما هو متمثل في مزارع الفطريات المحبة للقلوية إختياراً والفطريات المحتملة للقلوية على التوالي.

تشـــير العديد من الدراسات إلى قدرة عدد من الفطريات (المترممة والممرضة للنـــباتات) عـــلى تشـــييد وإفـــراز الـــنظام الإنـــزيمي ســـليوليز **(Umezurike , 1970 ; Olutiola , 1977 ; Canevascini et. al., 1979 ; Moustafa & Sharkas, 1982 ; Moubasher & Mazem ,1991 ; Vazquez et. al. , 1992) .**

جدول (٦) متوسط قطر منطقة تحليل النشا (مم) بعد فترة تحضين ٢ ، ٤ ، ٧ أيام على بيئة تشابك المزودة بانشا (كمصدر وحيد للكربون) عند درجة حرارة ٣٠°م

م	الفطريات	متوسط قطر المنطقة المتحللة للنشا (مم)		
		٢ يوم	٤ يوم	٧ يوم
١	اكريمونيم ستريكتم	٢٤,٢	٥٩,٢	٧٢,٤
٢	سلندرو كاربون هيتيرونيما	٢٦,٢	٦٣,٢	٧٣,٦
٣	فيوزاريم مونيلفورم	٣١,٣	٦٥,٠٠	٧٥,٠٠
٤	أسبرجيللس فلافيبس	٣٣,٣	٦٨,٤	٧٨,٢
٥	رايزوكتونيا سولاني	٣٥,٢	٦٩,١	٧٥,١

جدول (٧) معدل نمو الفطريات المختبرة وإنتاجها لانزيم بولى جالاكتيورونيز (PG) بعد التحضين لفترة ٧ أيام على بيئة تشابك المزودة ببكتين الموالح (كمصدر وحيد للكربون) عند رقم الأس الهيدروجيني (٧) ودرجة حرارة ٣٠°م

م	الفطريات	رقم الأس الهيدروجيني	الوزن الجاف للميسليوم (مجم)	نشاط إنزيم بولي جالاكتيورونيز ميكوجرام مكافئ جلوكوز / مل
١	اكريمونيم ستريكتم	٨,٥٣	٢٦٠	٣٧,٣٥
٢	سلندرو كاربون هيترونيما	٨,٢٥	٢٧٠	٢٧,٠٨
٣	فيوزاريم مونيلفورم	٨,٦	١٤٥	٢٤,٥١
٤	أسبرجيللس فلافيس	٦,٦٣	٢٤٢	٣٠,٠٣
٥	رايزوكتونيا سولاني	٥.٥	١٤٥	٢٣,٥٩

جدول (٨) معدل نمو الفطريات المختبرة وانتاجها لانزيم السليوليز بعد التحضين لفترة سبعة أيام على بيئة تشابك المزودة بكاربوكسي ميثيل سليلوز (CMC) كمصدر وحيد للكربون عند رقم الأس الهيدروجيني (٧) ودرجة حرارة ٣٠ °م

م	الفطريات	رقم الأس الهيدروجيني	الوزن الجاف للميسليوم (مجم)	نشاط إنزيم السليوليز ميكوجرام جلوكوز / مل
١	اكريمونيم ستريكتم	٨,٨٤	١٨٢	٠,٣٥٤
٢	سلندرو كاربون هيتيرونيما	٨,٩	٢٣٢	٠,١٠٧
٣	فيوزاريم مونيلفورم	٥,٩٧	٨٢	٠,٠٢٠١
٤	أسبرجيللس فلافيس	٥,٨٧	١١١	٠,٨٥
٥	رايزوكتونيا سولاني	٥,٨٦	٦٧	٠,٠٢٢٩

ثالثاً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على إنتاج الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز بواسطة بعض الفطريات المحبة للقلوية اختيارا.

تشير النتائج في (جدول ٩ ، ١٠ ، ١١ ، ١٢ ، ١٣ ، ١٤) إلى قدرة العزلتين أكريمونيم ستريكتم وسلندروكاربون هيترونيما (المحبة للقلوية اختياراً) على النمو في بيئات تشابك المحتوية بكتين موالح أو كاربوكسي ميثايل سليلوز (كمصادر وحيدة للكربون) وكانت معدلات النمو على البيئات السائلة المحتوية بكتين الموالح (جداول ٩،١٠) أعلى منها على البيئات المحتوية كاربوكسي ميثايل سليلوز (جداول ١٢، ١٣).

هذا وقد صاحب نمو العزلتين تغير واضح في أرقام الأس الهيدروجيني لأوساط النمو في نهاية كل فترة من فترات التحضين (جداول ٩ ، ١٠ ، ١١ ، ١٢) وتمثل التغيير في ارتفاع رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي المتعادل (pH7) إلى ٨,٤ و ٨,٥ لكل من أكريمونيم ستريكتم ، وسلندروكاربون هيترونيما، على التوالي وذلك حال استخدام البكتين كمصدر للكربون وبعد فترة تحضين ١٥ يوماً، بينما أرتفعت القيم إلى ٨,٨٣ و ٨,٨٠ حال استخدام كربوكسي ميثايل السليلوز كمصدر للكربون.

هذا وفي حال الأوساط الغذائية القلوية (أرقام الأس الهيدروجيني ٩، ١٠) فقد تمثل التغيير في إنخفاض أرقام الأس الهيدروجيني إلى ٨,٥٨ و ٨,٩٣ على التوالي في مزارع الفطرة أكريمونيم ستريكتم النامية في وجود البكتين وبعد فترة تحضين ١٥ يوماً، بينما تغيرت القيم في مزارع نفس الفطرة إلى ٩,١٥ و ٩,٥٥ في الأوساط الغذائية المحتوية سليلوز (جدول ١٢) وتكررت أيضاً ظاهرة تغير رقم الأس الهيدروجيني لمزارع الفطرة سلندروكاربون هيترونيما سواء احتوت البيئة الغذائية بكتين أو كاربوكسي ميثابل سليلوز كمصدر للكربون.

يتضح أيضاً من النتائج أن استخدام بكتين الموالح مصدر وحيد للكربون (جداول ٩ ، ١٠ ، ١١) قد استحث كلا الفطرتين على تشييد وإفراز كل من إنزيم بكتين ميثايل استريز (PME) وإنزيم بولي جالاكيتورونيز (PG) في البيئات الغذائية السائلة ذات أرقام الأس الهيدروجيني (٧ ، ٩ ، ١٠) والتي تم تحضينها لفترات مختلفة (٥ ،١٠، ١٥) لفطرة أكريمونيم ستريكتم معدل إنتاجها لهذه الإنزيمات أعلى من الفطرة سلندروكاربون هيترونيما حيث بلغ الانخفاض النسبي في لزوجة بكتين الموالح (PG) ٦ ، ٤٠ ، ٥ ، ٣٢ على التوالي (بعد عشرة أيام تحضين، جدول ١١) كما يلاحظ أن رقم الأس الهيدروجيني المبدئي للوسط الغذائي له تأثير على كل من معدل نمو الفطريات وأيضاً تشييدها للإنزيمات البكتينية، حيث ثبت أن رقم الأس الهيدروجيني المبدئي (٩)، هو الأنسب لنمو كلا الفطرتين وأيضاً انتاجهما لهذه الإنزيمات.

تشير النتائج كذلك إلى أن معدل تشييد الفطريات للإنزيمات PG, PME يزداد بزيادة فترة التحضين حتى اليوم العاشر، ثم تنخفض القدرة على التشييد بزيادة فترة التحضين إلى خمسة عشر يوماً (جداول ٩، ١٠، ١١).

فيما يخص تأثير رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي وأيضاً فترة التحضين على قدرة كلا الفطرتين في انتاج أنزيم السليوليز، تشير النتائج المتحصل عليها (جداول ١٢ ، ١٣ ، ١٤) أن كلا الفطرتين تشيد وتفرز إنزيم السليوليز حال نموها في بيئة مزودة بكربوكسي ميثايل سليلوز كمصدر وحيد للكربون. يتضح كذلك أن معدل نمو كلا الفطرتين يتأثر تبعاً لرقم الأس الهيدروجيني المبدئي للوسط الغذائي (جداول ١٢ ، ١٣) حيث كان رقم الأس الهيدروجيني (٩) هو في الغالب الأنسب للنمو وأيضاً تشييد السليوليز، وهذا التأثير يماثل ما أشارت إليه النتائج المتحصل عليها في وجود بكتين الموالح كمصدر وحيد للكربون (جداول ٩، ١٠).

تشير النتائج أيضاً (جداول ١٢ ، ١٣) إلى أن معدل نمو الفطرة أكريمونيـــم ستريكتم وإنتاجها للسليوليز أعلا من الفطرة سلندروكاربون هيترونيما حيث بلـــغ الانخفاض النسبي في لزوجة السليلوز (٢٥,٧ – ٢٢,٥٦) على التـــوالي، يتضـــح أيضاً من النتائج (جداول ١٢ ، ١٣، ١٤) أن معدل تشيد وإفراز السليوليز يتـــأثر بعمر المزرعة، وقد تم تسجيل أعلى نشاط للسليوليز في المزارع التي تم تحضينها لمـدة عشرة أيام بينما انخفض النشاط بزيادة فترة التحضين إلى خمسة عشر يوماً.

جدول (٩) معدل تشييد الإنزيمات المحللة للبكتين (بكتين ميثايل إستيريز PME وبولى جالاكيتورونيز PG) بوساطة الفطرة أكريمونيم ستريكتم حال تنميتها عند درجة حرارة ٣٠°م لفترات مختلفة على بيئة تشابك المحتوية بكتين الموالح (كمصدر وحيد للكربون) وذات أرقام الأس الهيدروجيني ٧ ، ٩ ، ١٠.

فترة التحضين (يوم)	رقم الأس الهيدروجيني عند بداية التجربة	رقم الأس الهيدروجيني عند نهاية التجربة	وزن الغزل الفطري الجاف (مجم)	نشاط إنزيم بكتين ميثايل إستريز (PME) مل ، من ٠,٠٢ عياري هيدروكسيد صوديوم اللازمة لبقاء pH (٨)	نشاط إنزيم بولي جالاكتيورونيز (PG) ميكروجرام مكافئ جلوكوز / مل
٥	٧	٧,٤٥	٢٨٨	٠,٢٥	١٣,١
	٩	٨,٣٩	٣٢٠	١,٥٠	٢٨,٥
	١٠	٨,٢٤	١٨٥	١,٥٤	١٩,٦
١٠	٧	٧,٨١	٢٣٤	١,٥١	١٩,٠٠
	٩	٨,٥٣	٢٦٠	٢,٦٠	٤٨,٤
	١٠	٨,٤٦	٢١١	١,٧٥	٣٩,٥
١٥	٧	٨,٤٠	١٤١	١,٢	١٤,٥
	٩	٨,٥٨	٢٨٦	١.٧٥	٣٢,٥
	١٠	٨,٩٢	٢٥٤	١,٤٨	٢٧,٥
L. S. D. at ٠,٠٥		–	٠,٣٠٦	١,٤٨	١,٧٦١

جدول (١٠) معدل تشييد الإنزيمات المحللة للبكتين (بكتين ميثايل إستيريز PME وبولي جالاكيتورونيز PG) بوساطة الفطرة سلندروكاريون هيتيرونيما حال تنميتها عند درجة حرارة ٣٠°م لفترات مختلفة على بيئة تشابك المحتوية بكتين الموالح (كمصدر وحيد للكربون) وذات أرقام الأس الهيدروجيني ٧ ، ٩ ، ١٠.

فترة التحضين (يوم)	رقم الأس الهيدروجيني عند بداية التجربة	رقم الأس الهيدروجيني عند نهاية التجربة	وزن الغزل الفطري الجاف (مجم)	نشاط إنزيم بكتين ميثايل إستريز (PME) مل ، من ٠,٠٢ عياري هيدروكسيد صوديوم اللازمة لبقاء pH (٨)	نشاط إنزيم بولي جالاكتيورونيز (PG) ميكروجرام مكافئ جلوكوز / مل
٥	٧	٧,٥١	١٩٣	٠,١٤	١٥,٩٧
	٩	٨,٦٤	١٩٥	٠,٨٢	٢٣,٥٢
	١٠	٨,٤٨	١٢٥	٠,٧٦	٢١,٢٥
١٠	٧	٨,٢٤	١٧٣	٠,٨	١٧,٠٦
	٩	٨,٢٥	٢٣٢	٢,٢٠	٢٦,٧
	١٠	٨,٢٦	١٤٥	١,٤	٢٠,٧٠
١٥	٧	٨,٥٠	١٦٨	٠,٣٥	١١,٣
	٩	٨,٥٢	١٩٢	١,٥٢	١٨,٤٢
	١٠	٨,٩٥	١٨٧	١,٠٢	١٤,٦٣
L. S. D. at ٠,٠٥		–	٠,١١٤	٢,٢٢٨	١,٨٤٣

جدول (١١) معدل إنتاج بولى جالاكيتورونيز (PG) بوساطة الفطريات المحبة للقلوية إختياراً (أكريمونيم ستريكتم و سلندروكاريون هيتيرونيما) حال تنميتها عند درجة حرارة ٣٠° م لفترات مختلفة على بيئة تشابك المحتوية بكتين الموالح (كمصدر وحيد للكربون) وذات أرقام الأس الهيدروجيني ٧ ، ٩ ، ١٠.

الفطرة	فترة التحضين (يوم)	نشاط إنزيم بولى جالاكيتورونيز [متوسط % الانخفاض في لزوجة خليط التفاعل] رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي في بداية التجربة		
		٧	٩	١٠
أكريمونيم ستريكتم	٥	١٢,٦	٢٢,٣	١٩,٢
	١٠	٢٣,٢	٤٠,٦	٣٦,٧
	١٥	٢٠,٥	٣٥,٧	٣١,٦
سلندروكاربون هيتيرونيما	٥	١١,٨	١٤,٨	١٠,٥
	١٠	١٩,٦٥	٣٢,٥	٢٥,٦
	١٥	١٦,٣	٢٦,٧	٢٢,٨
L. S. D. at ٠,٠٥	–	٨,٥٩٣	٥,٠٥٤	٣,١٤٠

جدول (١٢) معدل إنتاج إنزيم السليوليز بوساطة الفطرة أكريمونيم ستريكتم حال تنميتها عند درجة حرارة ٣٠°م لفترات مختلفة على بيئة تشابك المحتوية كاربوكسي ميثايل سليلوز (كمصدر وحيد للكربون) وذات أرقام الأس الهيدروجيني ٧ ، ٩ ، ١٠.

فترة التحضين (يوم)	رقم الأس الهيدروجيني عند بداية التجربة	رقم الأس الهيدروجيني عند نهاية التجربة	وزن الغزل الفطري الجاف (مجم)	نشاط إنزيم السليوليز ميكروجرام جلوكوز / مل
٥	٧	٨.٨	٢٨٦	٠,١٤٩
	٩	٩,١٥	٢٧٥	٠,٢٢٨
	١٠	٨,٨٥	٢١٧	٠,١٦٢
١٠	٧	٨,٨٤	١٩٨	٠,٣٠٦
	٩	٩,١٥	٢٤٥	٠,٤٤٦
	١٠	٩,٥٥	١٩٦	٠,٣١٨
١٥	٧	٨,٨٣	١٦٨	٠,٢٢٧
	٩	٩,١٥	١٤٨	٠,٣٠١
	١٠	٩,٥٥	١٦٣	٠,٢٨١
L. S. D. at ٠,٠٥		١,٠٦١	٩,٩٤٢	٧,٥٩٦

جدول (١٣) معدل إنتاج إنزيم السليوليز بوساطة الفطرة سلندروكاربون هتيرونيما حال تنميتها عند درجة حرارة ٣٠ °م لفترات مختلفة على بيئة تشابك المحتوية كاربوكسي ميثايل سليلوز (كمصدر وحيد للكربون) وذات أرقام الأس الهيدروجيني ٧، ٩، ١٠.

فترة التحضين (يوم)	رقم الأس الهيدروجيني عند بداية التجربة	رقم الأس الهيدروجيني عند نهاية التجربة	وزن الغزل الفطري الجاف (مجم)	نشاط إنزيم السليوليز ميكروجرام جلوكوز / مل
٥	٧	٨,٩٠	١٢٦	٠,١١٢
	٩	٩,٢٠	١١٨	٠,١٨٢
	١٠	٨,٦٤	١٥٦	٠,١٦٥
١٠	٧	٨,٩٢	١٢٢	٠,٢٢٢
	٩	٩,٢٥	٢٣٢	٠,٣١٥
	١٠	٩,٥٠	١٤٥	٠,١٨٥
١٥	٧	٨,٨٠	١٢٨	٠,١٠٩
	٩	٩,٢٥	١٨٦	٠,١٣٦
	١٠	٩,٥٣	١٢٣	٠,١٢٣
L. S. D. at ٠,٠٥		٠,٨٨١	٠,٥٠١	٥,٦٦٣١

جدول (١٤) معدل إنتاج إنزيم السليوليز بوساطة الفطريات المحبة للقلوية إختياراً (أكريمونيم ستريكتم، و سلندروكاربون هتيرونيما) حال تنميتها عند درجة حرارة ٣٠°م لفترات مختلفة على بيئة تشابك المحتوية كاربوكسي ميثايل سليلوز (كمصدر وحيد للكربون) وذات أرقام الأس الهيدروجيني ٧ ، ٩ ، ١٠.

الفطرة	فترة التحضين (يوم)	نشاط إنزيم سليلوليز [متوسط % الانخفاض في لزوجة خليط التفاعل] رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي في بداية التجربة		
		٧	٨	١٠
أكريمونيم ستريكتم	٥	٦,٤٧	١٢,٢٦	١٢,٦٥
	١٠	٩,٤٧	٢٥,٧	٢٣,٧
	١٥	٨,٥٢	١٣,٦	١١,٢٢
سلندر وكاربون هتيرونيما	٥	٤,٦٣	١١,٤	١٠,٤
	١٠	١٤,٨٥	٢٢,٥٦	٢٠,٢١
	١٥	١٠,٥	١٥,٣	١٤,٧
L. S. D. at ٠,٠٥		٣,٦٦٣	٣٧,٣٤٢	١٣,٠٦٥

رابعاً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على النمو وانتاج عديدات التسكر بواسطة الفطرة المحبة للقلوية اختياراً **Acremonium strictun**

تبين الجداول (١٥ ، ١٦) معدل نمو الفطرة أكريمونيم ستريكتم (الوزن الجاف) في أوساط غذائية تم ضبط رقم الأس الهيدروجيني قبل تلقيحها عند الرقم (٧) في التجربة الأولى والرقم (٩) في التجربة الثانية كما توضح إستهلاك الفطرة للجلوكوز، تشيد وإفراز عديدات التسكر والتغيير في الرقم الهيدروجيني للراشح لكل فترة تحضين وحتى نهاية فترة التحضين ٢٠ يوم.

أظهرت النتائج في الجداول (١٥ ، ١٦) أن معدل استهلاك الفطرة للجلوكوز في كلا التجربتين يزداد بزيادة فترة التحضين، كما يتضح أيضاً أن نمو الفطرة صاحبة تغيير في رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي تمثل بالانخفاض في البداية (بعد ثلاثة وأربعة أيام) على التوالي، ثم بالارتفاع التدريجي إلى الرقم ٩,٠٨ في التجربة الأولى والرقم ٩,٤ في التجربة الثانية مع نهاية فترة التحضين.

هذا وقد بلغ النمو (الوزن الجاف للغزل الفطري) أقصاه في كلا التجربتين بعد أربعة أيام من بداية فترة التحضين حيث بلغ ٥١٢,٤ مجم، ٦١٥ مجم عند رقم الأس الهيدروجيني (٧ ، ٩) على التوالي، وتبع ذلك إنخفاض تدريجي في الوزن الجاف للغزل الفطري والذي تزايد مع زيادة فترة التحضين، وكان معدل الإنخفاض في الوزن الجاف أعلى عند رقم الأس الهيدروجيني ٧ بالمقارنة برقم الأس الهيدروجيني ٩ حيث بلغ الحد الأدنى للوزن الجاف بعد ٢٠ يوم من فترة التحضين ١٢٢,١ مجم و ٢٤٣ مجم على التوالي.

كما تشير النتائج إلى أن الفطرة تشيد عديدات التسكر وتفرزها خارج خلاياها مع بداية إستهلاك الجلوكوز المضاف للبيئة. وأن كمية عديدات التسكر ومعدل إستهلاك الجلوكوز تتزايد مع زيادة فترة التحضين (الجداول ١٥ ، ١٦). وقد بلغت كمية عديدات التسكر المنتجة ٤١,٤ مجم و ٦٠,٦٧ مجم ومعدل إستهلاك الجلوكوز ٩٦,٨٪ و ٩٧,٧٪ مع نهاية فترة التحضين (٢٠ يوماً) وذلك عند الأرقام الهيدروجينية (٧ ، ٩) على التوالي.

جدول (١٥) معدل النمو (الوزن الجاف)، رقم الأس الهيدروجيني للبيئة الغذائية، نسبة الجلوكوز المستهلك، إنتاج عديدات التسكر للفطرة اكريمونيم ستريكتم لفترات التحضين المختلفة (يوم) عند درجة حرارة ٣٠°م ورقم الأس "٧".

فترة التحضين (يوم)	رقم الأس الهيدروجيني PH	الوزن الجاف للغزل الفطري (مجم)	الجلوكوز المستهلك %	عديدات التسكر في الراشح مجلم/ مل
٣	٦,٧٣	٤٣١,٣	٤٨	٩,١٥
٤	٧,٤٣	٥١٢	٦٨,٥	٩,٣٠
٥	٧,٩١	٣٧٠	٧٧,٤	٩,٦٠
٧	٨,٢٥	٣٤٣	٨٢,٤	١٢,٧
١٠	٨,٤٤	٢٣٥,٧	٩٤,٤	١٩,٥
١٥	٨,٩٢	١٣٥	٩٥,٤	٣٠,٤
٢٠	٩,٠٨	١٢٢,١	٩٦,٧	٤١,٤
L. S. D. at٠,٠٥	٠,٨٦٦	٠,٨٧٢	–	٠,٩٦٣

جدول (١٦) معدل النمو (الوزن الجاف)، رقم الأس الهيدروجيني للبيئة الغذائية، نسبة الجلوكوز المستهلك، إنتاج عديدات التسكر للفطرة اكريمونيم ستريكتم لفترات التحضين المختلفة (يوم) عند درجة حرارة ٣٠°م ورقم الأس الهيدروجيني "٩".

فترة التحضين (يوم)	رقم الأس الهيدروجيني PH	الوزن الجاف للغزل الفطري (مجم)	الجلوكوز المستهلك %	عديدات التسكر في الراشح مجلم/ مل
٣	٧,٥	٤٠١	٦٩,٣	٩,١٤
٤	٨,٥٥	٦١٥	٧٢,١	١٠,٨٣
٥	٨,٩٢	٤٢٦	٨٠,٩	١١,١٧
٧	٩,٢	٤٠٠	٨٩,٩	٢٥,٥٦
١٠	٩,٣	٣٧٥	٩٤,٥	٤٣,٦٣
١٥	٩,٥	٢٨٦	٩٥,٦	٤٦,٨٤
٢٠	٩,٤٣	٢٤٣	٩٧,٦	٦٠,٦٧
L. S. D. at ٠,٠٥	٠,٤٩٩	٠,٩١١	–	٠,٩١٨

المناقشــــة

أولاً: توزيع كثافة الفطريات المحبة للقلوية في تربة بيئات منطقة مكة المكرمة:

يوضح جدول (١) صفات عينات التربة المختبرة، ويتضح منها تباين مستوى رطوبة التربة حيث تزداد في عينات تربة المرتفعات وكذلك عينة السهل الساحلي وهو الأقرب لها (١٢٪ إلى ١٩٪) وهذا إنعكاس للعوامل المناخية حيث يزداد معدل سقوط الأمطار كلما إتجهنا إلى الشرق من الشاطئ وخاصة في المرتفعات، كما أشار بدر الدين (١٩٩٢). يلاحظ أيضاً أن عينات تربة الشاطئ الداخلية (B_1) العارية من النباتات و (B2) المغطاة بعشيرة الرطريط ذات مستوى مرتفع من الملوحة (حوالي ١٠٪) بينما العينات الأقرب إلى البحر ذات مستوى منخفض نسبياً من الأملاح القابلة للذوبان في الماء (١٪ إلى ٤٪)، ويعزى هذا الاختلاف في نفس بيئة الشاطئ إلى أن العينات التي تم جمعها من نقاط داخلية تصلها قطرات من مياه البحر بفعل الرياح حيث تتبخر المياه وتتراكم الأملاح. هذا وتربة الأراضي المنخفضة أيضاً ذات مستوى مرتفع من الأملاح مقارنة بالقيم المتحصل عليها من تحليل عينات السهل الساحلي والمرتفعات، ويلاحظ أنها ممثلة بمستوى (٢٪) في التربة التي تجري بها عمليات الاستصلاح بينما في نفس بيئة الأراضي المنخفضة ارتفع مستوى الملوحة إلى (١١٪) في التربة التي تستوطنها عشيرة <u>Suaeda</u> <u>monoica</u>.

التربة العارية من النباتات (A1 – B1) محتواها من المواد العضوية منخفض مقارنة بالتربة التي تنمو فيها نباتات برية أو مزروعة، ويعزى ذلك للأجزاء النباتية المتساقطة على التربة في حالة وجود نباتات.

فيما يخص رقم الأس الهيدروجيني، تشير النتائج إلى أن جميع عينات التربة قلوية (تتراوح القيم بين ٨,١ –٩,٢) وهذا يتوافق مع ملاحظات

(Daubenmire, 1959) الذي أشار إلى أن تربة المناطق الجافة الحارة قلوية حيث لا تتوفر أمطار كافية لغسيل المركبات القاعدية الناتجة عن عمليات التجوية بينما تتكون قليل من المواد الحمضية الناتجة عن عمليات التحلل الطبيعية.

يبين (الجدول ٢) أعداد الفطريات المحبة للقلوية التي تستوطن عينات التربة المختبرة، وتشير النتائج إلى أن جميع عينات التربة تحت الدراسة تستوطنها فطريات محبة للقلوية (فيما عدا عينات الشاطئ B1, B2, A2) وبأعداد تتراوح بين ٠,٥٢ إلى ٢٧٩ × ١٠^٢ لكل جرام تربة مجففة، وهذا دليل إنتشارها الواسع في بيئات منطقة مكة المكرمة التي تتصف تربتها بالقلوية.

تشير النتائج أيضاً إلى تأثير بعض عوامل التربة الأخرى على كثافة الفطريات المحبة للقلوية التي تستوطنها، خاصة مستوى الملوحة والمحتوى العضوي. ففي عينة الشاطئ (A_1) حيث مستوى الملوحة منخفض (١,٣٣٪) تم عزل فطريات محبة للقلوية ولكن بأعداد قليلة نسبياً (٠,٥٢ × ١٠^٢) بينما لم تظهر فطريات في عينات تربة الشاطئ الأخرى التي تراوحت نسبة الملوحة بها بين ٤٪ إلى ١٠٪. ويخفف من التأثير الضار للملوحة محتوى التربة من المواد العضوية، فقد إزدادت أعداد الفطريات المحبة للقلوية في عينة الموقع IV حيث مستوى الملوحة مرتفع (١١٪) لكن أيضاً إرتفع المحتوى العضوية إلى ١,٦٤٪. دليل آخر على التأثير الموجب للمحتوى العضوي يتمثل في عينة الموقع VII حيث إزدادت لدرجة كبيرة كثافة الفطريات المحبة للقلوية وكان مستوى الملوحة متوسط لكن المحتوى العضوي مرتفع نسبياً (١,٦٢٪).

تتضمن الفطريات النامية على أطباق العد عشرين جنساً فطرياً بالإضافة إلى غزل فطري عقيم (لا ينتج وحدات تكاثرية، شفاف وملون)، يمكن الإشارة إلى هذه الفطريات على أنها محبة للقلوية (جدول ٣) حيث تم عزلها على بيئات غذائية

شديدة القلوية (رقم الأس الهيدروجيني ١٠,٥)، تضم هذه العزلات فطريات خميرة وفطريات خيطية، يختلف أعداد الأجناس بإختلاف المواقع، عدد كبير في الموقع VIII (١٣ جنس) يتبعه الموقع III، والموقعV (سبعة أجناس في كل منهما) وجنسين في كل من المواقع VII , VI , IV بينما لم يسجل غير جنس واحد في الموقع I.

الجنس فيوزاريم <u>**Fusarium**</u> كان ممثلاً في معظم العينات المختبرة (خمس عينات) أي درجة تكراره عالية، بينما كل من <u>الأسبيرجيلاس</u> <u>**Aspergillus**</u> والجنس <u>جيوتريكوم</u> <u>**Geotrichum**</u> ذوى درجة تكرار متوسط (تواجد في أربع وثلاث عينات تربة على التوالي)، وبقية الأجناس الفطرية كانت ذات درجة تكرار منخفضة (عزلت من عينة أو عينتين فقط).

جنس <u>الفيوزاريم</u> ذو المعدل التكراري العالي يمثل ٤ إلى ٧٨٪ من العدد الكلي للفطريات وجنس <u>الأسبيرجيلاس</u> ذو المعدل التكراري المتوسط تواجد بنسبة ١٢ إلى ٨٠٪ من العدد الكلي للفطريات، وتواجد مثل هذه الفطريات وغيرها لأعداد كبيرة في التربة القلوية قد يشير إلى أنها تفضل النمو في الوسط القلوي (تربة قلوية، بيئة العزل أيضاً قلوية).

يتوافق مع هذه النتائج مما أشار إليه **Johnson, 1923** حيث لاحظ أن الفطريات <u>**Penicillium**</u> <u>**variabile**</u> ، <u>**Fusarium**</u> <u>**bullatum**</u> ، <u>**F. oxysporum**</u>، يمكنها النمو عند رقم أس هيدروجيني (١١) مما يشير إلى ميلها للبيئة القلوية.

الدراسات السابقة لفطريات التربة، أستخدمت فيها بيئات غذائية حمضية أو متعادلة

(Park, 1968 ; Domsch <u>et.</u> <u>al</u>., 1980 ; Carroll and wicklow , 1992 ; Gams, 1992)

ولكن في الدراسة الحالية تم استخدام وسط غذائي شديد القلوية pH) (10.5 وأمكن عد وعزل مجموعة من الفطريات الخيطية والخميرة المستوطنة للتربة القلوية في منطقة مكة المكرمة، واستخدام مثل هذا الوسط الغذائي القلوي قد يشير إلى حب العزلات الفطرية للقلوية أو فقط إحتمالها لها، ولإلقاء الضوء على هذه الصفة الفسيولوجية تم دراسة تأثير رقم الأس الهيدروجيني في بيئات غذائية منضبطة على معدل نمو بعض هذه العزلات الفطرية (الجدول ٤).

تشير النتائج إلى إختلاف إستجابة الأنواع الفطرية (١١ نوعاً فطرياً تنتمي إلى عشرة أجناس) لرقم الأس الهيدروجيني للبيئة الغذائية في بداية التجربة، تمت ملاحظة زيادة في الوزن الجاف للغزل الفطري عند زيادة الرقم الهيدروجيني فقط من (٦) إلى (٧) ويتبع ذلك نقص واضح في الوزن، يتمثل هذا السلوك في نمط نمو الفطريات

Rhizopus nigricans, Scopulariopsis brevicaulis, Beauveria bassiana .

مجموعة أخرى من الفطريات تمثلت إستجابتها بزيادة معدل النمو مع زيادة قلوية الوسط الغذائي حتى الرقم (٨) وكانت شديدة الحساسية للرقم الهيدروجيني (٩)، تضم هذه المجموعة الفطريات:

Fusarium moniliforme , Paecilomyces divaricata, Aspergillus flavies, Cunninghamella elegans, Penicillium notatum and Acremonium murorum .

كما أن هناك مجموعة فطريات ثالثة أقل حساسية حيث يقل معدل النمو عند الرقم الهيدروجيني (١٠) (الفطرة Cylindrocarpon heteronema) أو عند الرقم الهيدروجيني (١١) (الفطرة Acremonium strictum).

تظهر هذه النتائج غياب حب القلوية إجباراً من الفطريات موضع الدراسة (فطريات لا تنمو عند رقم التعادل ولكنها تنمو مثالثا عند الرقم ١٠ فأكثر)، أما

حب القلوية إختياراً (نمو أفضل عند الأرقام ٩,١٠ عنه تحت الظروف الحامضية أو المتعادلة) فقد تمثل في الأنواع:

Cylindrocarpon heteronema و Acremonium strictum.

أمــا معظــم بقية العزلات فقد أظهرت قدرة على تحمل القلوية (تنمو جيداً عند الرقم ٨–٩ وتنمو أيضاً عند درجة التعادل ، مثال ذلك فطرة الفيوزاريم).

فيما يخص تغير رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي نتيجة لنمو العزلات (جــدول ٥)، فقد لوحظ أن التغيير كان محدوداً للغاية وتمثل في إنخفاض رقم الأس الهيدروجيني في الأوساط الغذائية ذات الرقم الهيدروجيني ٦ إلى ٨ للفطريات

Beauveria bassiana و Penicillium notatum و Rhizopus nigricans .

حيــث تراوحــت أرقــام الأس الهيدروجيني في نهاية التجربة بين ٢,٣ إلى ٣,٨١، وهذا أيضاً تأكيد لما سبق من تصنيف العزلات المدروسة إلى فطريات محبة للقلويــة إختــياراً وأخرى تحتمل القلوية. تتمثل هذه النتائج مع ملاحظات بعض الباحثين السابقين، ومنهم من عزل فطريات خميرة محبة أو محتملة للقلوية (Goto et. al., 1981; Aono , 1990) ومــنهم من عزل فطريات خيطية محبة أو محتملة للقلوية (Okada et. al , 1993).

خــتاماً يلزم الإشارة إلى أن الدراسات الفسيولوجية للكائنات الدقيقة المحبة والمحــتملة للقلوية تعني في الواقع دراسة لمجموعة ذات صفات خاصة، أو بمعنى آخر تعــني تركيــب وراثــي جديد يصلح أن يكون مصدراً للجينات اللازمة لتجارب الهندســة الوراثية، وتعني أيضاً إنزيمات جديدة و/أو تتميز بصفات خاصة قد يكون لهــا بعــض الاستخدامات، وعليه ستتواصل الدراسات الفسيولوجية عن العزلات المشــار إلــيها في هذا البحث لإماطة اللثام عن دورها و/أو أهمية تواجدها في تربة بيئات منطقة مكة المكرمة.

ثانياً: قدرة بعض العزلات الفطرية المحبة للقلوية اختياراً (ثــلاث عــزلات) والمحتملة للقلوية (عزلتان) على أفراز الأنزيمات المحللة للنشا، السليلوز و/أو المــواد البكتينية:

أوضحت النتائج قدرة فطريات التربة المختبرة على تشييد الإنزيمات المحللــة للنشا، السليلوز والمواد البكتينية مما يشير إلى الدور المحتمل لهذه العزلات في عــدم تراكم مثل هذه البوليمرات التي تصل إلى التربة ضمن مكونات المخلفات النباتيــة، أي أهميتها في دورة العناصر الغذائية ومن ثم زيادة خصوبة التربة.

أظهرت النتائج قدرة العزلات المختبرة على إنتاج كل من الإنزيمات المحللــة للبكتين والسليلوز وبدرجات مختلفة وهذه النتائج توصل إليها كثير من البــاحثين حيث أمكنهم معملياً عزل وتنقية هذه الإنزيمات من فطريات مختلفة ولا حضــوا أن تشييدها يعتبر سمة للفطريــات الممرضــة للنبــات **(Nema, 1992, Vazquez <u>et.al</u>.,1993 ; Alconada & Martinez 1995)** بل أن بعض الباحثين توصــل إلى أن راشح بعض هذه الفطريات الممرضة يسبب نفس أعراض المرض، فقــد ذكــر **Amadioha & Oladiran (1993)** أن راشــح مــزارع الفطــرة **<u>Rhizoctonia solani</u>** يسبب أعراض أعفان الجذور لنبات البطاطس مشابهاً لما تســببه الفطــرة نفسها من أعراض، وهذا يشير إلى أهمية هذه الأنزيمات في أحــداث المــرض، أي احتمال أن تكون الفطريات المختبرة ممرضة للنباتات الأمر الذي يحتاج إلى إثبــات تجريبي في دراسات مقبلة، وفي حالة إثبات ذلك فإن النتائج المعملية الحالية تشير إلى دور هذه الكائنات في مرحلة الترمم. تدل النتائج أيضاً إلى أن كل من الفطريــات المختبرة تشيد كلا مجموعتي الأنزيمات المحللة ولكن بدرجات متفاوتة، وإختــلاف معدل تشييد هذه الإنزيمات له خاصية بالنسبة للفطريات الممرضة للنباتات، حيــث

أشار كثير من الدارسين إلى أن هناك علاقة طردية بين كمية الإنزيمات المحللة المفرزة وبين القدرة المرضية لهذه الفطريات أي ضراوها.

(Pearson , 1974 ; Mourad, 1983; Chay & Reddy, 1986 Hassan, 1996 ; Tohamy et. al., 1987).

تباين قدرة العزلات على تشييد الإنزيمات المحللة تحت الظـــروف المتماثلـــة للتجربة يشير إلى أهمية دراسة تأثير العوامل البيئية المختلفة على كل من معدل نمـــو هذه العزلات ونشاطها.

هذا ورغم أن الدراسة الحالية – كونها أجريت في مزارع نقيـــــة – قـــد لا تعكس معدل نشاط الفطريات في البيئات الطبيعية (التربة)، حيث التنـــافس بـــين الكائنات على العناصر الغذائية إضافة إلى التأثيرات المضادة الممثلـــة في المجتمعـــات الميكروبية المختلطة، إلا أن النتائج المتحصل عليها تشير إلى دور هـــذه الفطريـــات وليس بالضرورة معدل نشاطها في البيئات الطبيعية.

ثالثاً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين على إنتـــاج الإنزيمـــات المحللة للبكتين والسليلوز بواسطة بعض الفطريات المحبة للقلوية اختياراً.

استطاعت الفطريات المختبرة (أكريمونيـــم ســـتريكتم وســـلندروكاربون هتيرونيما) النمو في الأوساط الغذائية المزودة ببكتين الموالح أو كاربوســـي ميثـــايل سليلوز كمصدر وحيد للكربون وتحت ظروف التجربة (بيئات غذائية متعادلة **pH7** وقلوية **PH9&10** ولفترات تحضين ٥ ، ١٠ ، ١٠ يوماً)، وهذا دليل قدرهما علـى تشييد وإفراز الإنزيمات المحللة لهذه البوليميرات في البيئات المعتدلة والقلوية.

تتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة أشارت إلى قدرة الفطرة أكريمونيـــم على تشييد هذه الأنزيمات

(Hayashi et. al.,1996 Hayashi et. al., 1997; Pitson et. al., 1997 a ; Pitson et. al., 1997 b ; Pitson et. al.,1999).

وأيضاً قدرة أنواع تابعة للجنس سلندر وكاربون (Strzelezyk et. al., .1987 ;Usharani & Ramarao , 1987).

نمو هذه الفطريات المحبة للقلوية اختياراً في البيئات الغذائية المتعادلة (pH7) والقلوية (pH9 & 10) أدى إلى تغيير أرقام الأس الهيدروجيني للبيئات بالزيادة والإنخفاض – على التوالي – بحيث أصبحت جميعها بيئات قلوية ذات رقم أس هيدروجيني قريب من المستوى (٩) مما يدل على أن هذا المستوى من القلوية هو الأنسب لنمو ونشاط هذه الفطريات المحبة للقلوية اختياراً، هذه النتائج تتماثل مع ما توصل إليه Hiura and Tanimura (1991) وذلك عند تنمية فطرة فيوزاريم محبة للقلوية عند رقم الأس الهيدروجيني (٧ ، ١٠) ولاحظا تغير رقم الأس الهيدروجيني في كلا الحالتين إلى (٩) وقد لوحظت هذه الظاهرة أيضاً مع العديد من البكتريا المحبة للقلوية بحيث ثبت أن الكائنات الدقيقة المحبة للقلوية لها القدرة على تغيير رقم الأس الهيدروجيني في البيئة المحيطة إلى المستوى الذي يناسبها (Horikoshi & Akiba, 1982)

تشير النتائج أيضاً على أن قدرة الفطرة أكريمونيم ستريكتم على تشييد وإفراز الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز تفوق قدرة الفطرة سلندروكاربون هتيرونيما، ويتضح هذا من مستويات الانخفاض في لزوجة أوساط التفاعل المحتوية بكتين الموالح أوكاربوكسي ميثايل سليلوز (جداول ١١ ، ١٤). اختلاف قدرة الفطرتين على تشيد الإنزيمات المحللة لهذه البوليمرات تتماثل مع نتائج سبق تسجيلها في دراسات اختبرت فيها قدرة أنواع مختلفة من الفطريات (Mussell & Green, 1970) أو اختبرت سلالات تابعة لنوع فطري واحد فقد اختبر (Osagie & Obuekwe 1991) عشر سلالات من الفطرة Fusarium oxysporum f. sp. Alaeidis ولاحظوا اختلاف قدرة السلالات على تشييد الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية والسليلوز.

تفوق الفطرة أكريمونيم ستريكتم على الفطرة سلندروكاربون هتيرونيمـا في تشييد وإفراز هذه الإنزيمات (جداول ٩ ، ١٤) إنعكس على معدل نموها (جـداول ٩ ، ١٠ ، ١٢ ، ١٣) حيث أن نواتج فعل الإنزيمات هي المركبــات الكربونيــة الميسرة التي تستخدم بواسطة العزلات كمصدر للكربون والطاقة ومن ثم كلمـدزاد معدل تشييد وإفراز أي من الإنزيمات المحللة كلما زاد معدل نمو الفطرة المختبرة.

تشير النتائج أيضاً إلى أن رقم الأس الهيدروجيني للوسط الغذائي يؤثر علـى كل من معدل نمو الفطريات (جداول ٩ ، ١٠ ، ١٢ ، ١٣) وكذلك قدرتها علـى تشييد وإفراز الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية والسـليلوز (جـداول ١١ ، ١٤) وقد كانت الأوساط الغذائية القلوية (pH9) هي الأنسب، ورقم الأس الهيدروجيني الأنسب هذا هو تقريباً نفس مستوى القلوية التي تتحول إليه الأوســاط الغذائيـة المعتدلة والقلوية (pH7,9&10) نتيجة لنشاط الفطريات المختـبرة (جـداول ٩ ، ١٠، ١٢، ١٣) أي أن التغير في رقم الأس الهيدروجيني الذي تحدثه الفطريـات المحبة للقلوية في البيئة المحيطة هو التغير إلى المستوى الأنسب لنمو ونشـاط هـذه الكائنات (Horikoshi & Akiba, 1982). تأثير رقم الأس الهيدروجيني للوسـط الغذائي على إنتاجية الفطريات للإنزيمات سـبق إيضاحـه في دراسـات عديـدة (Sherwood , 1966) بل أن مثل هذا التأثير أختلف باختلاف نوع الإنزيم، فقـد لاحظ (Osagie & Obuekwe 1991) أن البيئـة القلويـة (pH, 7.8-8.5) هـي الأنسب لتشييد إنزيم (PME) بوساطة عشر سلالات من الفطرة <u>F. oxysporum</u> f.sp eiaeidis بينما رقم الأس الهيدروجيني الأمثل (PG) بوساطة نفس السـلالات تتراوح بين (pH7.1-8.4)، هذا وإنتاج الفطرتين لإنزيمات السليوليز بمعدل أقل مـن إنتاجها إنزيمات تحليل البكتين قد يعزى أيضاً إلى رقم الأس الهيدروجيني للوسـط الغذائي فقد لاحظ نفس الباحثين أن (pH5-6) هو الأنسب لتشيد أنزيم السـليوليز

بواسطة العشر سلالات من الفطرة **F. oxysporum** كما سبق أن لاحظ **Reese & Levinson 1952** أن الوسط الحامضي هو الأنسب لإنتاج السليوليز بوساطة الفطرة **Aspergillus luchuensis**.

حديثا وفي مجال دراسة تأثير التغيرات البيئية على تنظيم التعبير الجيني في الكائنات الدقيقة تمت دراسة تفصيلية (**Yakoby et. al.,2000**) لاستكشاف تأثير رقم الأس الهيدروجيني على نشاط الفطرة **Colletotrichum gloeosporioides** واتضح أن نمو الفطرة في بيئة ٣,٨ إلى ٦,٥ وإفراز إنزيم بكتات ليز **Pectate Lyase (PL)** لوحظ عندما تصل البيئة إلى (**pH5.8**)، ويزداد المعدل حتى (**pH5.7**). ولم يلاحظ افراز الانزيم من هذه البيئة عند أقل من (**pH5.8**) أو حتى حينما يتم نقل هيفات الفطرة من الظروف المناسبة لإفراز PL عند (**pH6.5**) إلى (**pH3.8**)، هذا السلوك يختلف عنه في حالة تشييد وإفراز الإنزيم البولي جالاكتيورونيز (**PG**) حيث ينسخ الجين ويتم إفراز الإنزيم عند (**pH5.0**) ويستمر حتى (**pH5.7**)، مثل هذه النتائج لها أهمية تطبيقية حيث الفطرة موضع الدراسة تصيب بعض الثمار النباتية والتي يختلف رقم الأس الهيدروجيني فيها باختلاف الأنواع (ومن ثم يتم فهم أسس مقاومة بعض الأنواع) وحتى باختلاف مرحلة النضج وعليه يتم تحديد المعاملة الأنسب وتوقيتها واللازمة لمقاومة الإصابة. هذا وفي مجال الإنتاج الصناعي للإنزيمات يلزم تحديد أنسب الظروف اللازم توافرها للحصول على أعلى معدلات إنتاجية.

يتضح من النتائج أيضاً أن معدل تشييد الفطريات للإنزيمات يختلف باختلاف فترة التحضين (الجدول رقم ٩ ، ١٤) حيث يزداد بزيادة فترة التحضين حتى اليوم العاشر، ثم تنخفض القدرة على التشييد والافراز بزيادة فترة التحضين إلى خمسة عشر يوماً، وهذه النتائج الخاصة بعمر المزرعة تتوافق مع ما لاحظه العديد

من الدارسين لنشاط الفطريات ; (Talboys and Busch, 1970; Olutiola, 1978 Olutiola & Akintude 1979 ; Osagie , 1991).

وقد أشار Usharani & Ramarao (1987) أن أفضـــل مســـتوى إنتـــاج للإنزيمات المحللة للبكتين لوحظ في مزارع عمرها عشرة أيـــام لكـــلا الفطرتـــين سلندروكاربون ليشينكولا C. ichenicola وتريكـــورس ســـبيراليز **Trichurus spirali**، وفيما يخص انخفاض مستوى نشاط الإنزيمات عند التحضين لفترة تزيـــد عن عشرة أيام فقد يعزى ذلك إلى تجمع نواتج أيضية ضارة، كما أشار إلى ذلـــك .Pelczer & Reid , (197

تبعاً للنتائج السابق عرضها، يتضح أن تحليل كـــل مـــن المـــواد البكتينيـــة والسليوز يتم بمعدل أفضل بوساطة الفطريات المحبة للقلوية في البيئات القلوية ومنها تربة منطقة مكة المكرمة التي تستوطنها العديد من الفطريات المحبة والمحتملة للقلويـــة (Khodiar et. al., 1991 ; Salama et. al., 1993 ; Ramadani & Aggab , 1993) ، الأمر الذي يشير إلى الدور النشط لهذه الفطريات في مجال تحسين صفـــات التربة وزيادة خصوبتها. كما يستخدم خليط من الإنزيمات الميكروبيـــة (يتضمـــن السليوليز، البكتينيز وإنزيمات أخرى محللة للكربوهيـــدرات) في أعـــداد علائـــق الحيوانات، وتعزى أهمية هذه الأنزيمات إلى نشاطها الذي يحول بعض البوليمـــرات إلى صور أبسط تركيباً يسهل تمثيلها بواسطة الحيوانات.

وتستخدم إنزيمات البكتينيز الميكروبية في بعض الصناعات الغذائيـــة مثـــل إستخلاص وترويق عصائر الثمار وأيضاً تفكيك أنسجة الخضراوات.

رابعاً: تأثير رقم الأس الهيدروجيني وفترة التحضين علـــى النمـــو وأنتـــاج عديدات التسكر بواسطة الفطرة المحبة للقلوية أختياراً **Acremonium strictum**.

أجريت العديد من الدراسات على الكائنات المحبة للقلوية وكـــانت معظـــم هذه الدراسات عن البكتيريا خاصة جنس (باسيلوس Bacillus).

(Cuffanti et. al., 1978, 1980, 1986; Gee et. al., 1980; Koyame et. al., 1983; Mclaggan et. al., 1984)

بينما إهتم عدد محدود من الباحثين بدراسة إنتشار وبعض خواص الفطريات المحبة للقلوية أو التي تتحملها.

(Jonson, 1923; Battly & Barlett, 1966; Matsushima et. al., 1980; Khodair, et. al., 1991; Salama, et. al., 1993; and Ramadani & Aggab, 1993)

ومن ثم تأتى أهمية الدراسة الحالية التي تستهدف تبيان أحد أوجه نشاط معزولة فطرية محبة للقلوية إختياراً والمتمثل بمعدل تشييد وإفراز عديدات التسكر عند أرقام أس هيدروجينية مختلفة.

أوضحت النتائج أن نمو الفطرة عند رقم الأس الهيدروجيني (٧) قد صاحبه زيادة حموضة الوسط الغذائي في بداية التجربة (بعد ثلاثة أيام من التحضين) أصبح الرقم (٦ ، ٧) ثم إزداد الرقم في اليوم الرابع إلى (٧,٤٥) (وهو أعلى من رقم الأس الهيدروجيني في بداية التجربة) حيث بلغ النمو أقصاه (٥١٢ مجم)، ثم ازدادت قلوية الوسط الغذائي حتى بلغت الرقم (٩) بعد عشرين يوماً من التحضين (جدول ١٥) وقد لوحظت نفس الظاهرة عند تنمية الفطرة عند الرقم الهيدروجيني (٩) (جدول ١٦).

هذا وقد إتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه **(Horikoshi & Akiba 1982)**، حيث لاحظا أن فطرة الفيوزاريوم عند تنميتها على الأوساط الغذائية ذات الرقم الهيدروجيني (٧ ، ١٠) عند درجة ٣٠°م، عملت على تخفيض الرقم الهيدروجيني في بداية التجربة ثم تبع ذلك زيادة قلوية البيئة إلى الرقم الأمثل للنمو، وقد لاحظا نفس الظاهرة عند تنمية البكتريا المحبة للقلوية وخلصوا إلى القول بأن الكائنات المحبة للقلوية لها القدرة على تغيير الرقم الملائم لنموها.

هذا ويعزى إنخفاض الرقم الهيدروجيني في بداية فترة التحضين إلى بعض نواتج الأيض. (Bahl et. al., 1982, Gottschall & Morris, 1981; Holt et. al., 1984, Thomson & Booth, 1983 and Stewart & Booth, 1985)، ومن الشواهد التي تؤكد حقيقة تفضيل الفطرة للبيئة إن معدل إستهلاك الجلوكوز في التجربة ذات رقم الأس الهيدروجيني (٩) أعلى منه في التجربة ذات الرقم (٧) خلال فترات التحضين المختلفة، كما أن وزن الميسليوم الجاف بعد أربعة أيام من بداية التجربة وحتى نهاية فترة التحضين (٢٠ يوماً) كان أكبر عند الرقم الهيدروجيني (٩) بالمقارنة عند الرقم (٧). كما توضح النتائج أن الكتلة الحيوية للفطرة تبلغ أعلى قيمة لها في كلا التجربتين بعد إنقضاء أربعة أيام من بداية فترة التحضين، ويعقب ذلك تناقص قيم الكتلة الحيوية نتيجة لتوقف النمو (حيث استهلك معظم جلوكوز الوسط الغذائي) وبداية التحليل الذاتي، وقد كان معدل التناقص في التجربة ذات الرقم الهيدروجيني (٧) أعلى منه في التجربة الأخرى رقم الأس الهيدروجيني (٩) مما يؤيد أيضاً أن الفطرة تفضل البيئة القلوية، وفي كلا التجربتين يتم تشييد وإفراز عديدات التسكر والتي تتناسب كمياتها طردياً مع كل من فترة تحضين ونسبة الجلوكوز المستهلك. وقد بلغت كمية عديدات التسكر المنتجة بعد ٢٠ يوماً من التحضين ٤١,٤ مجم، ٦٠,٧ مجم عند أرقام الأس الهيدروجينية (٩,٧) على التوالي.

تتفق هذه النتائج ما توصل إليه (Leal et. al., 1978) حيث لاحظوا أن الفطرة اسبيرجيللس نيديولانز تنتج عديدات التسكر والتي تزداد كمياتها مع طوال فترة التحضين دون تحليل بينما تتناقص الكتلة الحيوية للفطرة نتيجة للتحلل الذاتي وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليها باحثون آخرون درسوا نشاط فطريات أخرى (Seviour et. al., 1983, Leal et. al., 1979 and Buck et. al., 1968)

ويفسر الباحثون تواجد عديدات التسكر في رواشح الفطريات بأنها ربما تكون من مكونات الجدار الخلوى للكائن والذي يستمر في إنتاجها حتى عندما تقل الحاجة إليها في تشييد الجدار، أو ربما تمثل هذه البوليمرات مواد مختزنة داخل السيتوبلازم ولكن يتم إنتاجها بكميات تفوق قدرة الكائن على إختزانها، أو يكون إنتاج هذه البوليمرات إستجابة لظروف بيئية غير ملائمة ومن ثم تلزم كمواد مختزنة لوقت الحاجة إليها، أو يكون لها دور متمثل في توفير حماية فيزيائية للكائن في مثل هذه الظروف غير المواتية.

(Leal ، et. al., 1979 and Stainopoulos & Seviour , 1989)

هذا وبمراجعة النتائج المتحصل عليها بعد ٢٠ يوماً من التحضين، يتضح أنه في كلا التجربتين استهلاك الجلوكوز المضاف للوسط الغذائي بنسبة ٩٦,٧٪ و ٩٧,٦٪ عند الأرقام الهيدروجينية (٩,٧) على التوالي. كذلك قلت كمية الكتلة الحيوية وعديدات التسكر عند رقم الأس الهيدروجيني (٧) عن مثيلاتها عند رقم الأس الهيدروجيني (٩)، وهذا يقدم دليلاً إضافياً آخر يشير إلى أن معدل نمو الفطرة وإنتاج عديدات التسكر في البيئة القلوية أفضل من البيئة المتعادلة.

تشير هذه الدراسة إلى أهمية إستكشاف معدل إنتاج وإفراز عديدات التسكر بواسطة عزلات مختلفة من الفطريات المحبة للقلوية يتم تنميتها عند درجات مختلفة من الحموضة والقلوية، ومثل هذه الدراسات سوف تظهر تأثير عامل الأس الهيدروجيني، وقد تؤدي أيضاً إلى عزل عديدات تسكر مختلفة من حيث تركيبها الكيميائي تبعاً لتأثير رقم الأس الهيدروجيني والتي قد تكون لها بعض الاستخدامات ومنها معالجة الأورام السرطانية Misaki et. al., (1984).

المـــراجـــــع

أولاً : المراجع العربية :

أحمد– بدر الدين يوسف محمد (١٩٩٢)، مناخ مكة المكرمة، سلسلة بحوث العلوم الاجتماعية (١٥)، جامعة أم القرى.

ثانياً : المراجع الأجنبية :

Aguilar , G. & Huitron, C. (1987). Stimulation of the production of extracellular pectinolytic activitics of *Aspergillus* sp . by galacturonic acid and glucose addition. *Enzyme* and *Microbial Technology* 9, 690-696 .

Alconada , T. M. and Martinez, M.J. (1995) Protoplast isolation from plant tissues by extracellular lytic enzymes from cultures of *Fusarium oxysporum* f. sp . melonis Revista *Argentina* de *Microbiol* . 27 : 4 , 191 - 197 .

Alexander , M. (1982) . Introduction to soil Microbiology ,2ed (ed.) John wiley and Sans ., Inc., New York , USA .

Amadioha , A. C. and Oladiran , A. O. (1993) Pectolytic enzymes produced by *Rhizoctonia bataticola* in culture and *Rhizoctonia* infected tissues of potato tubers (*Solanum tuberosum L.*) School of Agric . Abia State Univ, Uturu Abia State , Nigeria *Myco - Pathologia* 122 : 3 , 163-167 .

Aono, R. (1990) Taxonomic distribution of alkali-tolerant yeasts system. Appl. Microbiol. 13:394-397.

Applied and *environmental Microbiology* ,vol.66 ,No .,3 1026-1030 .

Bahkali , A.H., Al-Khaliel ,A.S and Elkhider , K.A (1997) .In vitro and In vivo production of pectolytic enzymes by

some phytopathogenic fungi isolated from southwest Saudi Arabia. J.King Saud Univ .Secience 2,9 :125- 137 .

Bahkali, A. H. 1983 " Studies of the pectic enzyme complex produced by Verticillium species ". Ph. D. Thesis , University of Wales Uk .

Bahl, H., Andersch, W., Braun, K. and Gottschalk, G. (1982). Effect of pH and butyrate concentration on the production of acetone and butanol by Clostridium acetobutylicum grown in continuous culture. *European Journal* of *Applied Microbiology*_and *Biotechnology*, 14: 17-20

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1972) Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis.

Barron G.L. (1968) The genera of Hyphomycetes from soil. The William & Wilkins Company, Baltimore .

Battley, E. M. and Barlett, E. J. (1966) A convenient pH gradient method for the determination of the maximum and minimum pH for microbial growth. *Antonie van leeuwenhoek* 32, 245-255.

Booth, C. (1971) The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew , Surrey, England .

Buck, K. W. Chen, A. W., Dickerson, A. G. & Chain, E.B. (1968). Fomation and structure of extracellular glucans produced by *Claviceps* species. *Journal* of *General Microbiology* 51, 337-352.

Canevascini, G., Coudray , M. R., Rey, J. P., Southgate , R. R. J. & Meir, H. (1979) . Induction and catabolite repression of cellulase synthesis in the thermophilic fungus,

Sporotrichum thermophile . *Journal* of *General Microbiology* 110 , 291 - 303 .

Carroll, G. C. and Wicklow , D. T. 1992. "The fungal community, 2nd ed. "Marcel Dekker, New York .

Chary , S. J. and Reddy , S. M. (1986) Variability in the production of different hydrolases by two species of *Fusarium*, causing tuber rot of potato (*Solanum tuberosum L.*) Dept. Bot. Kakatiya Univ. Warangal, India *J.* of the *Indian* , *Botanical Society*, 65 : 4 , 544-547 .

Collins, C. H. (1969) Microbiological Methods , 2nd (ed.) , London , Butterworths .

Cooke , R. C. and Whipps , J. M. 1993 . " Ecophysiology of fungi," Blackwell Sci . Publ ., London .

Daubenmire , R.F. (1959) Plants and Environment. A text book of plant autecology , John Wiley & Sons Inc., New York .

Dawson, R. H. C, Daphne C.E. Elliott, Elliott, W.H. and Jones , K.M, (1969). Data for Biochemical Research .. Crarendon press. Oxford .

De Lorenzo, G. Salvi , G., Degra , L., D'Ovidio, R. and Carvone, F. (1987) . Induction of extracellular polygalacturonase and its mRNA in the phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* . *J.* of *Gen. Microbiology* 133, 3365-3373 .

Domsch, K. H. ; Gams, W. and Traute-Heidi Anderson (1980) Compendium of soil fungi. Academic Press, London.

Domsch, K. H. and Gams, W. (1972) Fungi in agricultural soils. Longman Group Ltd., London.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for thedetermination of Sugars. *Analytical Chemistry* 28, 350-356.

Fanellii , C., Cacace , M. G. & Cervone , F. (1987) . Purification and properties of two polygalacturonases from *Trichoderma koningii. Journal* of *General Microbiology* 104, 305 - 309 .

Gams, W. 1992, The analysis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil fungi. In. "Fungi in vegetation science", (ed. by Winterhoff , W.) pp. 183-223, Kluwer Academic pub. Dordrecht .

Garrett, S.D. (1963) Soil Fungi and Soil Fertility . Oxford : Pergamon .

Gee, J. M., Lund, B.M., Metcalf, G. and Peel, J.L. (1980) Properties of new group of alkalophilic bacteria. *Journal* of *General Microbiology* 117: 9-17.

Goto, S.; Aono, R., Sugiyama, J. and Horikoshi, K. (1981) *Exophiala alcalophila* , a new black, yeast-like hyphomycete with an accompanying *Phaeococcomyces alcalophilus* morph, and its physiological characteristics. *Trans. Mycol. Soc.* Japan 22 : 429 - 439 .

Gottschal, J. and Morris, J. G. (1981). The induction of acetone and butanol production in cultures of *Clostridium acetobutylicum* by elevated concentrations of acetate and butyrate. *FEMS Microbiology Letters*, 12, 385-389.

Greaves, H. (1971) The effect of substrate availability on Cellulolytic enzyme production by selected wood - rotting organisms . *Australian J. of Biological Sciences* 24, 1169-1180 .

Guffanti, A. A., Blanco, R., Benson, R. A. and Krulwich, T. A. (1980) Bioenergetic properties of Alkaline-tolerant and alkalophilic stains of *Bacillus firmus*. *Journal* of *General Microbiology* 119: 79-86.

Guffanti, A. A., Finkelthal, O., Hicks, D. B., Falk, L., Sidhu, A., Garro, A. and Krulwich, T. A. (1986) Isolation and characterisation of new facultatively alkalophilic strains of *Bacillus* species. *Journal of Bacteriology* 176, 766-773.

Guffanti, A. A., Sussman, P., Benson, R. A. and Krulwich, T.A (1978) The proton motive force and aminoisbutyric acid transport in an obligate alkalophilic bacterium. *Journal of Biological Chemistry* 253, 708-715.

Hassan , S. A. A. (1996) Effect of some soil - borne fungi of grape vine cuttings in nursery in Egypt and their control. M. Sc Thesis , Fac . Agric , AL - Azhar Univ . Egypt .

Hayashi ,K.; Nimura ,Y., Miyaji , T.; Ohara , N.; Uchimura T.; Suzuki , H.; Komagata , K. and M.Kozaki (1997) purification and properties of a low - temperature active enzyme degrading both - cellulose and xylan from *Acremonium alcalophilum* JCM7366 Seibutsu - Kogaku - Kaishi ; 75 (1) 9-14 .

Hayashi K., Nimura, Y.; Ohara, N.; Uchismura ,T.; Suzuki , H.;Komagata , K. and M.Kozaki (1996) Low - temperature active cellulase produced by *Acremonium alcalophilum* JCM 7366 . Seibutsu - kogaku - Kaishi ; 74 (1) 7-10

Hiura , N.and Tanimura, M (1991) Alkaliphilic Fungi , *Fusarium* sp.In Superbugs Microorganisms in extreme environments ,edited by K. Horikoshi and W.D Grant . Japan Sientific Societies press Tokyo.

Holt, R. A., Stephens, G. M. and Morris, J. G. (1984) Production of solvents by *Clostridium acetobutylicum* cultures maintained at neutral pH. *Applied* Environmental *Microbiology*, 48, 1166 -1170.

Horikoshi, K. and Akiba, T. (1982) Alkalophilic microorganisms, a new microbial world. Japan scientific Societies press Tokyo. 201 p.

Jackson, M.L. (1958) Soil Chemial Analysis. Constable & Co. Ltd., London.

Johnson, H. W. (1923) Relationships between hydrogen ion, hydroxyl ion and salt concentrations and the growth of seven soil molds. Lowa *Agricultural Experimental Station Research Bulletin* 76,307-344.

Johnson, L., Curl, E., Bond, J. and Fribourrg, H. (1960) Methods for studying soil microflora. Plant Disease Relationships Burgess Publishing Company, Minneapolis .

Khodair , A. A., Ramadani , A.S. and Aggab, A.M. (1991) Occurrence and density of alkalophilic bacteria and fungi in saline soils of Makkah district , Saudi Arabia . *Arab Gulf J. Scient . Res.*, 9 (3) : 119-132.

Koyama, N., Takinishi, H. and Nosoh, Y. (1983) A Possible relation of membrane proteins to the alkalostability of a facultatively alkalophilic *Bacillus*. *FEMS Microbiology Letters* 16, 213-216.

Leal, J. A. & Ruperez, P. (1978) Extracellular Polysaccharide production by *Aspergillus nidulans*. *Transactions of the British Mycological Society* 70, 115-120.

Leal, J. A., Ruperez P. & Gomez- Miranda, B (1979) Extracellular glucan production by *Botrytis cinerea*. *Transactions of the British Mycologial Society* 72. 172-176.

Leone, G. & Van Den Heuvel , J. (1987). Regulation by carbohydrates of the sequential "in vitro" production of pectic enzymes by *Botrytis cinerea. Canadian Journal of Botany* 65, 2133-2141 .

Manachini ., M. G., Fortina , C. & Parini , C. (1987). Purification and properties of an endopolygalacturonase produced by *Rhizopus stolonifer* . *Biotechnology Letters* 9, 219 - 224 .

Marcus , L. Barash, I., Sneh , B., Koltin, Y. & Finkler ,A (1986). Purification and characterization of pectolytic enzymes produced by virulent and hipovirulent isolates of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 29, 325 - 336 .

Matsushima, K., Mori, I., Ito, N. and Shimada, K. (1980) The feature of the proteolytic enzyme system of acid-tolerant and alkaline-tolerant fungi *Journal* of *Agricultural Chemical Society* of Japan 54, 875-876.

Mclaggan, D., Selwyn, M. J. and Dawson, A. P. (1984) Dependence on Na^+ of control of cytoplasmic pH in facultative alkalophile. *FEBS Letters* 165, 254-258.

Miller , G.L. (1959) .Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars .*Analytical chemistry* 31, 426-428.

Misaki, A., Kawaguchi , K., Miyaji , H., Nagae, H., Hokkoku, S., Kakuta, M. & Sasaki, T. (1984). Structure of pestalotan, a highly branched (1? 3) - B-D- glucan elaborated by *Pestalotia* sp 815 and the enhancement of its antitumour activity by polyol modification of the side chains. *Carbohydrate Research* 129, 209-227.

Moubasher, A. H., Mazen , M. B. (1991) : Assay of cellylolytic activity of cellulose-decomposing fungi isolated from Egyptian soil . *J. Basic Microbiol.* 31, 59-68 .

Mourad , M. Y. (1983) Studies on root rot disease of grape in Egypt and its control . Ph. D. Thesis , Fac., Agric., AL-Azhar Univ . A. R. E.

Moustafa, F., Sharkas, M. S. (1982) : Fungi associated with cellulose decomposition in the tidal mud flats of Kuwait. *Mycopathol.* 78, 185 - 190 .

Mussell, H.W., &Green,R. J. (1970) .Host colonization and polygalacturonase production by two tracheomycotic fungi. *Phytopathology* 60,192-195.

Nema , A. G (1992) Studies on pectinolytic and cellulytic enzymes produced by *Fusarium udum* causing wilt of pigeonpea . Dept . of Forestry, Jawahar lal Nehru krisli Vishwa Vidyalaya , Jabalpur 482004, India . Indian S. of Forestry , 15 : 4, 353 - 355 .

Norkrans , B.& Hammarstrom A.(1963) .Studies on growth of *Rhizina undulata* Fr. and its production of cellulose and pectin decomposing enzymes. *Physiologia Plantarum* 16- 1-10 .

Okada, G., Niimura, Y., Sakata, T., Uchimura, T. Ohara, N., Suzuki, H. and Kozaki, M. (1993) *Acremonium alcalophilum*, a new alkalophilic cellulolytic hyphomycete. *Trans. Mycol. Soc.* Japan 34 : 171 - 185 .

Olutiola , P. O. (1977). Cellulolytic enzymc system in culture fillrates of *Aspergillus sydowi. Physiologin Plantarum* 39, 243-247 .

Olutiola , P.O (1983) Cell wall degrading enzymes associated with deterioration of cocoa beans by *Penicillium stechii. International Biodeterioratin Bulletin* 19,27-36.

Olutiola ,.P.O & Akintunde, O.A (1979) .Pectin lyase and pectin mehtylesterase production by *Penicillium citrinum .Transactions of the Birtish Mycological Society* 72 49-55

Olutiola ,P.O (1978) Growth sporulation and prodcution of pectic and cellulolytic enzymes in *Fusarium oxysporum .Transactions of the British Mycological Society* 70, 109-114.

Osagie , I.J. and C.O. Obuekwe (1991). Extracellular hydrolytic enzyme production by pathogenic strains of *Fusarium oxysporum* f.sp.elaeidis *Mycol .Res* . 95(1) 116-122.

Park, D. 1968. The ecology of terrestrial fungi. In : "The fungi, vol.3, " (ed. by Ainsworth, G. C. and Sussman, A.S)

Pearson , V. (1974) . Virulence and cellulolytic activity of isolates *Gaeumannomyces graminis . Transactions of the British Mycological Society* 63, 199 - 202 .

Pelczar , M.J. and R.D.Reid .(1972) Micobiology . New York: McGraw - Hill .

Pitson ,S.M., Seviour ,R.J .& McDougall , B.M .(1997a) .Production of β-glucan degrading enzymes by *Acremonium* and *Cephalsoporium* species *.Mycological Research* 101, 153-158.

Pitson ,S.M Seviour R.J .& McDougall ,B.M .(1997b) Purification and characterization of an extracellular β-glucosidase from the filamentous fungus *Acremonium persicinum* and its probable role in β-glucan degradation. *Enzyme* and *Microbial Technology* 21 182- 190

Pitson ,S.M Seviour ,R.J and B.M McDougall (1999) Induction and carbon source control of extracellular β-glucosidase production in *Acremonium persicinum* . *Mycological Research* 103- 2,161-167

Ramadani A.S .And Aggab A.M (1993) .Alkalophily among some filamentous fungi isolated from Saudi Arabia Soils. *Arab Gulf J. Scient Res* .113: 403-414.

Raper, K. B. and Thom, C. (1949) A manual of the Penicillia Williams and Wilkins Company, Baltimore .

Raper , K.B. and Fennel , D. L. (1965) . The genus *Aspergillus.* Williams and Wilkins company, Baltimore .

Reese , E.T. & Levinson, H.S. (1952) .A comparative study of the breakdown of cellulose by microorganisms .*Physiologia Plantarum* 5,345-366.

Rombouts , F. M. & Pilnik , W. (1980). Pectic enzymes , In Economic Microbiology. 227 - 282. Edited by A.H. Rose. Academic Press London .

Salama,A.M., Aggab, A. M .and Ramadani,A.S .(1993). Alkalophily among microorganisms inhabiting virgin and cultivated soils along Makkha - Al- Tayef Road. Saudi Arabia. *Journal* of the *College of Scince,* King Saud University Riydh .Saudi Arabia., 5(2):69-85.

Seviour, R. H. & Hensgen, K. (1983). Exocellular glucan production by *Acremonium diospyri. FEMS Microbiology Letters* 16. 343-347.

Seviour, R. J. & Kristiansen, B. (1983). Effect of ammonium ion concentration on polysaccharide production by *Aureabosidium pullulans* in batch culture. *European Journal* of *Applied Microbiology* and *Biotechnology* 17, 178-181.

Sherwood, R. T. (1966). Pectin lyase and polygalacturonase production by *Rhizoctonia solani* and other fungi .*Phytopathology* 56, 279-286 .

Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry* 195, 19-23.

Stasinopoulos, S. J. & Seviour, R. H. (1989). Exopolysaccharide formation by isolates of *Cephalosporium* and *Acremonium*. *Mycological Research* 92, 55-60.

Strzelczyk, E.; Dahm, -H.; Kowalski, S. (1987). The influence of pH and temperature on cellulolytic and pectolytic activity of *Cylindrocarpon destructans* (Zins) Scholt. .*Journal of Phytopathology*, 120:2,97-103 .

Talbosy P.W and Busch L.V. (1970) .Pectic enzymes produced by *Verticillium* species .*Trans Br. Mycol. Soc.* 55 : 367-381.

Thomson, F. M. and Booth, I. R. (1983). Control of butane- 2.3- diol formation in *klebsilla aerogenes*. *Biochemical Society Transactions*, 10, 465-466.

Tohamy , A. E. M. Abou - Taleb, E. M. A. and Raffat , F.M. (1987) The role of certain enzymes in the pathogenesis of *Rhizoctonia Solani*. Plantpath . Dept . Fac. of Agric. , Alexandria Univ. , Egypt. Alexandria J. of Agric . Res., 32:1.365-376 .

Umezurike , G. M. (1970). Cellulase and β- glucosidase components in culture filtrates of Bolryodiplodin theobromae Pat. *Journal of Experimental Botany* 21, 639-650 .

Usharani , P. and Ramarao, P (1987). Pectolytic and cellulolytic enzymes produced by *Cylindrocarpon lichenicola*, causing corm rot of taro and *Trichurus spiralis* ,

causing tuber rot of potato. Prespectives in *mycological research* (volume-I, edited by Hasija, S.K.; Rajak, R.C Singh , S), 117-126 .New Delhi, India ; Today and Tomorrow's Printers and Publishers .

Vazquez, C. , Patino , B. and Martinez , M. J. (1993) Purification and characterization of an exopoly- galacturonase produced by *Fusarium oxysporum* F. sp. radicis - lycopersici . Dept . de Microbio . III Fac. de Biolo, UCM, Madrid, Spain. *FEMS Microbiol , Letters*, 110 : 2, 191-196 .

Vazquez, C. , Sellek, R. and Fernanddez, N. (1992) Enzymes degrading vegetative walls in *Fusarium oxysporum* . Depto. Microbio . III , Fac. de Biolo., Univ. Complutens, Madrid , Spain , Boletin - de - Sanidad - Vegetal , Plagas, 18:4 , 693 - 698 .

Yakoby , N,; Kobiler ,I.; Dinoor ,A. and D.Prusky (2000). pH regulation of pectate layase secretion mudulates the attack of *Colletotrichum gloeosprioides on* Avocado fruits. *Applied* and *Environmental Microbiology*, 66 (3) : 1026 – 1030.

فهـــرس المحتويـــات